




BioPhotometer plus

Operating manual
Bedienungsanleitung
Manuel d'utilisation
Manuel de instrucciones
Istruzioni per l'uso

eppendorf



Copyright© 2007 Eppendorf AG, Hamburg. No part of this publication may be reproduced without the prior permission of the copyright owner.

Trademarks

eppendorf and UVette are registered trademarks of Eppendorf AG, Hamburg, Germany.

Cy is a registered trademark of GE Healthcare UK Ltd., Buckinghamshire, UK.

Alexa Fluor is a registered trademark of Molecular Probes Inc., Eugene OR, USA.

LabelGuard is a trademark of Implen GmbH, München, Germany.

Registered trademarks are not marked in all cases with [™] or ® in this manual.

Inhaltsverzeichnis

1	Benutzerhinweise	51
1.1	Anwendung dieser Anleitung	51
1.2	Warnzeichen und Gefahrensymbole	51
1.3	Darstellungskonvention.	51
1.4	Abkürzungen	51
2	Produktbeschreibung	52
2.1	Gesamt-Illustration	52
2.2	Lieferumfang	52
2.3	Produkteigenschaften	52
3	Allgemeine Sicherheitshinweise	54
3.1	Bestimmungsgemäßer Gebrauch	54
3.2	Gefährdungen bei bestimmungsgemäßigem Gebrauch	54
3.3	Anwendungsgrenzen	56
3.4	Hinweise zur Produkthaftung	56
4	Installation	57
4.1	Installation vorbereiten	57
4.2	Standort wählen	57
4.3	Gerät an das Netz anschließen	57
4.4	Küvetten	57
4.5	Drucker anschließen	58
5	Bedienung	59
5.1	Übersicht Bedienelemente	59
5.2	Methoden	60
5.3	Übersicht über den Messablauf	61
5.3.1	Messung vorbereiten	61
5.3.2	Methode auswählen	61
5.3.3	Messen	62
5.3.4	Methode abschließen	63
5.4	Nukleinsäuren	63
5.5	Proteine	64
5.5.1	Protein 280 nm	64
5.5.2	Protein nach Reagenzzugabe (Bradford, BCA, Lowry)	64
5.6	Methoden mit Auswertung über Standards	65
5.7	OD 600	66
5.8	Farbstoff-markierte Biomoleküle ("Dye-Methoden")	66
5.8.1	Methodengruppe "dye 550"	66
5.8.2	Methodengruppe "dye 650"	66
5.8.3	Einbaurate "FOI"	67
5.8.4	Korrekturfaktoren	67
5.8.5	Messablauf und Ergebnisanzeige	67
5.9	Methoden bei 340, 405 und 490 nm	68
5.10	Verdünnung	68
5.11	Probennummer	69
6	Parameter und Funktionen	70
6.1	Parameter	70
6.1.1	Parameter einer Methode ansehen, ändern und speichern	70
6.1.2	Parameterübersicht und -beschreibung	70
6.1.3	Ab Werk vorprogrammierte Parameter	71
6.2	Funktionen	74

Inhaltsverzeichnis

7	Instandhaltung	75
7.1	Reinigung	75
7.1.1	Küvetenschachtabdeckung reinigen	75
7.2	Desinfektion / Dekontamination	76
7.3	Dekontamination vor Versand	76
7.4	Sicherungen austauschen	76
7.5	Photometer überprüfen	77
7.5.1	Prüfablauf	78
8	Problembehebung	79
8.1	Ergebniskennzeichnungen	79
8.2	Fehlermeldungen	80
8.3	Allgemeine Fehler	81
9	Transport, Lagerung und Entsorgung	82
9.1	Transport	82
9.2	Lagerung	82
9.3	Entsorgung	82
10	Technische Daten	83
10.1	Stromversorgung	83
10.2	Umgebungsbedingungen	83
10.3	Gewicht / Maße	83
10.4	Schnittstellen	83
10.5	Photometer	83
10.6	Weitere technische Parameter	84
10.7	Anwendungsparameter	84
11	Auswerteverfahren	86
11.1	Auswertung mit Faktor	86
11.2	Auswertung mit Standards	86
11.2.1	Einpunktkalibration	86
11.2.2	Mehrpunktkalibration: Kalibrationsgerade	87
11.2.3	Mehrpunktkalibration: Kalibrationskurve	87
11.3	Verdünnung	87
11.4	Spezielle Auswerteverfahren für die Dye-Methoden	88
11.4.1	Berechnung des Faktors für den Farbstoff aus dem Extinktionskoeffizienten	88
11.4.2	Berechnung der FOI	88
11.5	Spezielle Auswerteverfahren für Nukleinsäuren und Protein UV	89
11.5.1	Korrektur E_{340}	89
11.5.2	Korrektur $E_{550/650}$	89
11.5.3	Umrechnung in molare Konzentrationen und Nukleinsäuremengen	89
12	Bestellinformationen	91

DE






Bedienungsanleitung

1 Benutzerhinweise


1.1 Anwendung dieser Anleitung

- ▶ Lesen Sie diese Bedienungsanleitung vollständig, bevor Sie das Gerät das erste Mal in Betrieb nehmen.
- ▶ Betrachten Sie diese Bedienungsanleitung als Teil des Produkts und bewahren Sie sie gut erreichbar auf.
- ▶ Bei Verlust der Bedienungsanleitung fordern Sie bitte Ersatz an. Die aktuelle Version finden Sie auf unserer Website www.eppendorf.com (International) bzw. www.eppendorfna.com (Nordamerika).

1.2 Warnzeichen und Gefahrensymbole

Darstellung	Bedeutung
	GEFAHR Gefahr durch Stromschlag mit möglicher schwerer Körperverletzung oder Tod als Folge.
	GEFAHR Explosionsgefahr mit möglicher schwerer Körperverletzung oder Tod als Folge.
	GEFAHR Biogefährdung mit möglicher Gesundheitsschädigung oder Tod als Folge.
	WARNUNG Warnung vor einer möglichen Körperverletzung oder einem gesundheitlichen Risiko.
	VORSICHT Hinweis auf die Gefahr von Sachschäden.
	Hinweis auf besonders nützliche Informationen und Tipps.

1.3 Darstellungskonvention

Darstellung	Bedeutung
▶	Sie werden zu einer Handlung aufgefordert.
1.	Führen Sie diese Handlungen in der beschriebenen Reihenfolge durch.
•	Auflistung.
 (Beispiel)	Drücken Sie diese Taste, um die beschriebene Handlung durchzuführen.
Text	Begriffe aus der Geräteanzeige.

1.4 Abkürzungen

DNA	Deoxyribonucleic acid - Desoxyribonukleinsäure
dsDNA	double stranded DNA
Dye-Methoden	Methodengruppen unter den Tasten dye 550 und dye 650
E	Extinktion
FOI	Frequency of Incorporation: Maß für die Menge an Farbstoffmolekülen bezogen auf die Zahl der Nukleotide in farbstoffmarkierten Biomolekülen
M	mol/l (<i>molar</i>)
OD600	Optische Dichte bei der Wellenlänge 600 nm
RNA	Ribonucleic acid - Ribonukleinsäure
ssDNA	single stranded DNA
UV	Ultraviolette Strahlung
VK	Variationskoeffizient (Standardabweichung / Mittelwert), in Prozent

2 Produktbeschreibung

2.1 Gesamt-Illustration

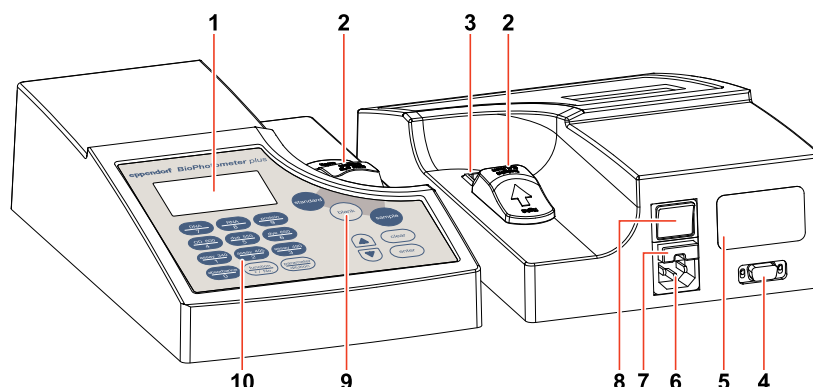


Abb. 1: Vorder- und Rückansicht

1 Geräteanzeige	2 Küvetten-schacht-abdeckung Zum Öffnen und Schließen nach hinten bzw. nach vorne schieben.
3 Küvetten-schacht	4 Anschluss RS-232
5 Typenschild	6 Netzanschlus-sbuchse
7 Sicherungshalter	8 Netzschalter
9 Messstasten	10 Tastatur

2.2 Lieferumfang

Anzahl	Beschreibung
1	BioPhotometer plus
1	Netzkabel
8	UVette Original Eppendorf Kunststoffküvette, einzeln verpackt, direkt im BioPhotometer verwendbar, zertifiziert RNase-, DNA and proteinfrei
1	BioPhotometer plus Bedienungsanleitung, mehrsprachig

2.3 Produkteigenschaften

Küvetten-photometer Das BioPhotometer plus ist ein Küvettenphotometer für die schnelle, einfache und komfortable Messung der wichtigsten Methoden im molekularbiologischen und biochemischen Forschungslabor. Zudem ist es für wesentliche photometrische Methoden der Zellbiologie einsetzbar.

Methoden-programme Methodenprogramme für die Konzentrationsbestimmung von Nukleinsäuren, Proteinen und Farbstoff-markierten Nukleinsäuren und Proteinen sowie die Methode „OD600“ für die Bestimmung der Bakteriendichte durch Trübungsmessung sind bereits vorprogrammiert. Sie können diese aber auch in vielen Parametern ändern. Weitere Methoden zur Konzentrationsbestimmung bei 340, 405 und 490 nm können Sie frei programmieren. Die Methode „Absorbance“ dient der schnellen Extinktionsmessung bei insgesamt 9 verfügbaren Wellenlängen ohne weitere Auswertung.

Methodenprogramme sind in Gruppen zusammengefasst, die Sie schnell über Festtasten aufrufen können.

2 Produktbeschreibung

- Küvetten** Sie können handelsübliche Rechteckküvetten aus Glas oder Kunststoff, die bei den jeweiligen Messwellenlängen optisch durchlässig sind, verwenden. Mit der Eppendorf UVette können Sie in einer Kunststoffküvette auch Nukleinsäuren und Proteine im UV-Bereich messen. Eine Abdeckung schützt den Küvettenschacht bei Nichtgebrauch des Photometers vor Staub und anderer Verschmutzung. Sie wird zum Öffnen des Küvettenschachts nach hinten, zur Abdeckung nach Ende der Messungen nach vorne geschoben.
- Messtasten** Nach Aufruf einer Methode ist das Gerät sofort messbereit. Sie starten eine Messung mit einer der 3 runden Messtasten.
- Auswertung** Das BioPhotometer plus rechnet die gemessenen Extinktionswerte in Konzentrationsergebnisse um. Je nach Methode können die Ergebnisse über feste Faktoren, über Standards oder über Kurvenkalibrationen berechnet werden. Neben den Ergebnissen zeigt Ihnen das Gerät auch die Extinktionswerte sowie weitere wichtige Details, wie z.B. die gängigen Extinktionsquotienten bei Nukleinsäurebestimmungen, an. Auch Probenverdünnungen können in die Auswertung einbezogen werden. Weitere spezielle Auswerteverfahren sind für bestimmte Methodengruppen vorgesehen. Beispielsweise können Sie bei der Konzentrationsbestimmung von Farbstoff-markierten Nukleinsäuren die Einbaurate des Farbstoffs bezogen auf die Nukleinsäure bestimmen.
- Ausgabe** Das BioPhotometer plus gibt die Ergebnisse über die Geräteanzeige und über einen bei Eppendorf erhältlichen Drucker aus.

DE

Bedienungsanleitung

3 Allgemeine Sicherheitshinweise

3.1 Bestimmungsgemäßer Gebrauch

Einsatzgebiet des BioPhotometer plus ist das Forschungslabor in Molekularbiologie, Biochemie und Zellbiologie. Das Gerät darf ausschließlich durch geschultes Fachpersonal bedient werden.

Das BioPhotometer plus dient zur photometrischen Messung der in dieser Anleitung beschriebenen Methoden.

Verwenden Sie ausschließlich Eppendorf Zubehör oder von der Eppendorf AG empfohlenes Zubehör.

3.2 Gefährdungen bei bestimmungsgemäßem Gebrauch



Gefahr! Stromschlag durch Schäden am Gerät/Netzkabel.

- ▶ Schalten Sie das Gerät nur ein, wenn Gerät und Netzkabel unbeschädigt sind.
- ▶ Nehmen Sie nur Geräte in Betrieb, die fachgerecht installiert oder instand gesetzt wurden.



Gefahr! Stromschlag durch eintretende Flüssigkeit.

- ▶ Schalten Sie das Gerät aus und trennen Sie es von der Stromversorgung, bevor Sie mit der Reinigung oder Desinfektion beginnen.
- ▶ Lassen Sie keine Flüssigkeiten in das Gehäuseinnere gelangen.
- ▶ Führen Sie keine Sprühdesinfektion durch.
- ▶ Schließen Sie das Gerät nur vollständig getrocknet wieder an die Stromversorgung an.



Gefahr! Stromschlag.

- ▶ Schalten Sie das Gerät aus und ziehen Sie den Netzstecker, bevor Sie das Gerät öffnen, um die Sicherungen zu wechseln. Diese Arbeiten dürfen nur durch entsprechend geschultes Personal durchgeführt werden.



Explosionsgefahr!

- ▶ Betreiben Sie das Gerät nicht in Räumen, in denen mit explosionsgefährlichen Stoffen gearbeitet wird.
- ▶ Bearbeiten Sie mit diesem Gerät keine explosiven, radioaktiven oder heftig reagierenden Stoffe.
- ▶ Bearbeiten Sie mit diesem Gerät keine Stoffe, die eine explosive Atmosphäre erzeugen können.



Gefahr beim Umgang mit giftigen oder radioaktiv markierten Flüssigkeiten oder pathogenen Keimen.

- ▶ Beachten Sie die nationalen Bestimmungen zum Umgang mit diesen Substanzen.
- ▶ Entnehmen Sie umfassende Vorschriften zum Umgang mit Keimen oder biologischem Material der Risikogruppe II oder höher dem "Laboratory Biosafety Manual" (Quelle: World Health Organisation, Laboratory Biosafety Manual, in der jeweils aktuell gültigen Fassung).



Warnung! Gesundheitsschädigungen durch Chemikalien.

Gefährliche Chemikalien verursachen Verätzungen und andere Gesundheitsschädigungen.

- ▶ Beachten Sie die Gebrauchshinweise der Hersteller von Reagenzien und anderen Chemikalien.

3 Allgemeine Sicherheitshinweise


Warnung! Sicherheitsmängel durch falsches Zubehör.

Die Verwendung anderer als von Eppendorf empfohlener Zubehör- und Ersatzteile kann die Sicherheit, Funktion und Präzision des Gerätes beeinträchtigen. Für Schäden, die durch Fremtteile oder unsachgemäßen Gebrauch verursacht werden, ist jegliche Gewährleistung und Haftung durch Eppendorf ausgeschlossen.

- ▶ Verwenden Sie ausschließlich von Eppendorf empfohlenes Originalzubehör.


Warnung! Gesundheitsgefahr durch kontaminiertes Gerät.

- ▶ Führen Sie eine Dekontamination durch, bevor Sie das Gerät bzw. Zubehör lagern oder versenden.

Vorsicht bei Verwendung aggressiver Chemikalien.

Aggressive Chemikalien können das Gerät und das Zubehör beschädigen.

- ▶ Verwenden Sie am Gerät und Zubehör keine aggressiven Chemikalien wie z.B. starke und schwache Basen, starke und schwache Säuren, Aceton, Formaldehyd, chlorierte Kohlenwasserstoffe oder Phenol.
- ▶ Reinigen Sie das Gerät bei Verunreinigungen durch aggressive Chemikalien umgehend mit einem neutralen Reinigungsmittel.

Vorsicht! Korrosion durch aggressive Reinigungs- und Desinfektionsmittel.

- ▶ Verwenden Sie weder ätzende Reinigungsmittel, noch aggressive Lösungs- oder schleifende Poliermittel.
- ▶ Inkubieren Sie das Zubehör nicht längere Zeit in aggressiven Reinigungs- oder Desinfektionsmitteln.

Vorsicht! Schäden an elektronischen Bauteilen durch Kondensatbildung.

- ▶ Warten Sie nach dem Transport des Gerätes aus einer kühleren Umgebung (z.B: Kühlraum oder im Freien) mindestens eine Stunde, bevor Sie es an die Spannungsversorgung anschließen.

Vorsicht! Beeinträchtigung der Funktion durch mechanische Schäden.

- ▶ Stellen Sie nach einer mechanischen Beschädigung des Gerätes durch eine Überprüfung sicher, dass die Mess- und Auswertefunktionen des Gerätes korrekt ablaufen.

Vorsicht! Überhitzungsschäden.

- ▶ Stellen Sie das Gerät nicht in der Nähe von Wärmequellen (z.B. Heizung, Trockenschrank) auf.
- ▶ Setzen Sie das Gerät keiner direkten Sonneneinstrahlung aus.
- ▶ Gewährleisten Sie eine ungehinderte Luftzirkulation, indem Sie auf allen Geräteseiten einen Abstand von mindestens 5 cm zu benachbarten Geräten oder zur Wand einhalten und die Unterseite des Gerätes freihalten.

Vorsicht! Sachschäden durch falsche Anwendung.

- ▶ Setzen Sie das Produkt nur für die in der Bedienungsanleitung beschriebene bestimmungsgemäße Verwendung ein.
- ▶ Achten Sie auf eine ausreichende Materialbeständigkeit bei der Anwendung von chemischen Substanzen.
- ▶ Wenden Sie sich in Zweifelsfällen an den Hersteller dieses Produktes.

3 Allgemeine Sicherheitshinweise

Vorsicht! Mangelnde Sicherheit durch fehlende Bedienungsanleitung.

- ▶ Fügen Sie bei Weitergabe des Gerätes immer die Bedienungsanleitung bei.
- ▶ Fordern Sie bei Verlust der Bedienungsanleitung Ersatz an. Die aktuelle Version der Bedienungsanleitung und der Sicherheitshinweise finden Sie auch auf unserer Website www.eppendorf.com.

Vorsicht! Schäden durch unsachgemäße Verpackung.

Für Schäden, die durch unsachgemäße Verpackung verursacht werden, ist jegliche Gewährleistung und Haftung durch Eppendorf ausgeschlossen.

- ▶ Versenden Sie das Gerät nur in der für den Transport vorgesehenen Originalverpackung.

Vorsicht! Schäden durch unsachgemäße Reinigung des Küvettenschachts.

- ▶ Reinigen Sie den Küvettenschacht nur mit einem feuchten Wattestäbchen (siehe *Reinigung* auf S. 75).
- ▶ Lassen Sie keine Flüssigkeit in den Küvettenschacht gelangen.
- ▶ Fassen Sie nicht mit dem Finger in den Küvettenschacht.

Vorsicht! Fehlmessung durch Verwechslung von Geräten.

- ▶ Wenn Sie in Ihrem Labor die Geräte Biophotometer 6131 und BioPhotometer plus 6132 benutzen, beachten Sie die unterschiedlichen Methodenbezeichnungen auf den Tasten.

3.3 Anwendungsgrenzen



Explosionsgefahr!

- ▶ Betreiben Sie das Gerät nicht in Räumen, in denen mit explosionsgefährlichen Stoffen gearbeitet wird.
- ▶ Bearbeiten Sie mit diesem Gerät keine explosiven, radioaktiven oder heftig reagierenden Stoffe.
- ▶ Bearbeiten Sie mit diesem Gerät keine Stoffe, die eine explosive Atmosphäre erzeugen können.

3.4 Hinweise zur Produkthaftung

In den folgenden Fällen kann der vorgesehene Schutz des Gerätes beeinträchtigt sein. Die Haftung für die Gerätefunktion geht dann auf den Betreiber über:

- Das Gerät wird nicht entsprechend der Bedienungsanleitung benutzt.
- Das Gerät wird außerhalb des hier beschriebenen Anwendungsbereiches eingesetzt.
- Das Gerät wird mit Zubehör oder Verbrauchsmaterial (z.B. Gefäße und Platten) eingesetzt, welches nicht von der Eppendorf AG empfohlen wird.
- Das Gerät wird von Personen, die nicht von Eppendorf autorisiert wurden, gewartet oder instand gesetzt.
- Am Gerät werden vom Betreiber unautorisiert Änderungen vorgenommen.

4 Installation

4.1 Installation vorbereiten

- ▶ Heben Sie den Transportkarton und das Verpackungsmaterial für einen späteren sicheren Transport oder für eine Lagerung auf.
- ▶ Kontrollieren Sie anhand der Angaben zum Lieferumfang die Vollständigkeit der Lieferung (siehe *Lieferumfang* auf S. 52).
- ▶ Prüfen Sie alle Teile auf eventuelle Transportbeschädigungen.

4.2 Standort wählen

Wählen Sie den Standort für das BioPhotometer plus nach folgenden Kriterien:

- 2 Steckdosen mit Schutzleiter für das BioPhotometer plus und für den Drucker.
- Fester Labortisch mit waagerechter Arbeitsplatte.
Platzbedarf des Gerätes: 40 cm (mit Drucker: 65 cm) Breite, 50 cm Tiefe.
- Temperatur: 15 bis 35 °C. Vermeiden Sie direktes Sonnenlicht.
- Luftfeuchtigkeit: 25 bis 75 % relative Feuchtigkeit.
- Luftdruck: 70 bis 106 kPa.

4.3 Gerät an das Netz anschließen

1. Stellen Sie das BioPhotometer plus auf eine geeignete Arbeitsfläche.
2. Überzeugen Sie sich, dass Netzspannung und -frequenz mit den Angaben für die Bereiche für Netzspannung und -frequenz auf dem Geräte-Typenschild übereinstimmen.
3. Verbinden Sie das Gerät mit dem Stromnetz und schalten Sie es mit dem Netzschalter **8** ein (Abb. 1 auf S. 52).
4. Ziehen Sie die Schutzfolie von der Geräteanzeige ab.

4.4 Küvetten

In die Küvettenaufnahme können Sie handelsübliche Rechteckküvetten aus Glas oder Kunststoff einsetzen (Außendurchmesser 12,5 mm x 12,5 mm). Die Lichtweghöhe muß bei 8,5 mm über dem Küvettenboden und die Gesamthöhe der Küvette bei mindestens 36 mm liegen. Das Lichtbündel in der Küvette ist 1,0 mm breit und 1,5 mm hoch.

Die Küvetten müssen bei der jeweiligen Messwellenlänge optisch transparent sein. Für Messungen im UV-Bereich bietet Eppendorf mit der UVette eine Kunststoffküvette an, die bei Wellenlängen ab 220 nm transparent und damit auch für die Messung von Nukleinsäuren geeignet ist.

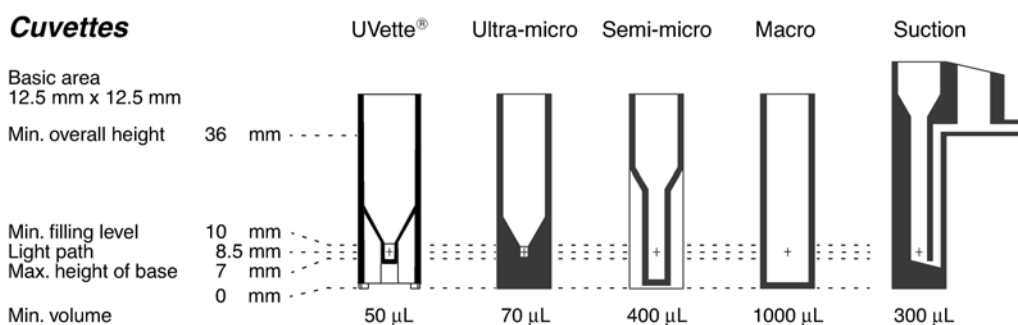


Abb. 2: Übersicht über verschiedene Küvettentypen

4 Installation

4.5 Drucker anschließen

An die serielle Schnittstelle RS 232 C des Photometers können Sie den Eppendorf Thermodrucker anschließen (siehe *Bestellinformationen* auf S. 91).

1. Verbinden Sie das Druckerkabel mit dem seriellen Druckeranschluss **4** des Photometers und drehen Sie die Sicherungsschrauben fest.
2. Verbinden Sie das Druckerkabel mit dem Drucker und drehen Sie ebenfalls die Sicherungsschrauben fest.
3. Schließen Sie den Drucker über das mitgelieferte Steckernetzteil (Zubehör des Druckers) an das Stromnetz an und schalten Sie ihn ein.
4. Überprüfen die Druckereinstellungen anhand der folgenden Tabelle und korrigieren Sie sie, falls erforderlich.

Hinweise zur Veränderung der Einstellungen des Druckers finden Sie in der Bedienungsanleitung des Druckers.

Tab. 1: Einstellung der DIP SW für den Thermodrucker

DIP SW-1	Bedeutung
1 (OFF)	Input = Serial
2 (ON)	Printing Speed = High
3 (ON)	Auto Loading = ON
4 (OFF)	Auto LF = OFF
5 (ON)	Setting Command = Enable
6 (OFF)	Printing
7 (ON)	Density
8 (ON)	= 100%

DIP SW-2	Bedeutung
1 (ON)	Printing Columns = 40
2 (ON)	User Font Back-up = ON
3 (ON)	Character Select = Normal
4 (ON)	Zero = Normal
5 (ON)	International
6 (ON)	Character
7 (ON)	Set
8 (OFF)	= U.S.A.

DIP SW-3	Bedeutung
1 (ON)	Data Length = 8 bits
2 (ON)	Parity Setting = NO
3 (ON)	Parity Condition = Odd
4 (OFF)	Busy Control = XON/XOFF
5 (OFF)	Baud
6 (ON)	Rate
7 (ON)	Select
8 (ON)	= 9600 bps

5 Bedienung

5.1 Übersicht Bedienelemente

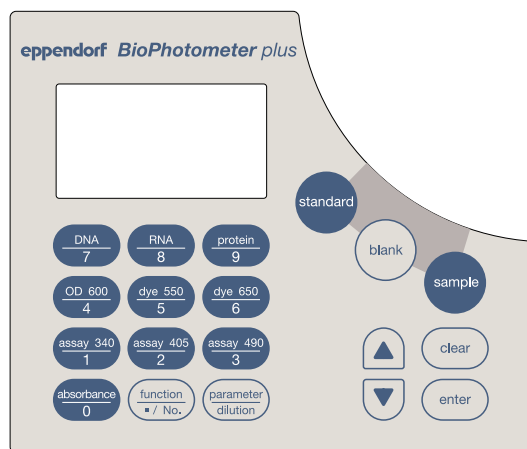


Abb. 3: Bedienfeld des BioPhotometer plus.

Taste	Funktion
Ovale, blaue Tasten, z.B.:	
	<ul style="list-style-type: none"> In der Methodenauswahl: Methodengruppe auswählen. Bei der Eingabe von Werten: Ziffern eingeben.
Kreisförmige Tasten	
	Standardmessung starten.
	Leerwertmessung starten.
	Probenmessung starten.
Ovale, transparente Tasten	
	<ul style="list-style-type: none"> In der Methodenauswahl: Parameterliste aufrufen. Im Messablauf: Probenverdünnung eingeben.
	<ul style="list-style-type: none"> In der Methodenauswahl: Funktionsliste aufrufen. Im Messablauf: Probennummer ändern. Bei Eingabe von Zahlen: Dezimalpunkt eingeben.
	<ul style="list-style-type: none"> Eingabe oder Auswahl bestätigen. Ausgewählte Methode oder Funktion aufrufen.
	Eingabe löschen
Cursor-Tasten	
	Cursor in der Geräteanzeige nach oben oder unten bewegen.

5 Bedienung

5.2 Methoden

Die folgenden Methoden sind verfügbar und ab Werk bereits vorprogrammiert. Sie können die meisten Parameter ändern und als veränderte Methode abspeichern (siehe *Parameter* auf S. 70).

Methodengruppe	Methode	Erläuterung	Wellenlänge
DNA	dsDNA	Konzentrationsbestimmung von DNA mit Auswertung über Faktor. Die Methoden unterscheiden sich primär durch den vorprogrammierten Faktor.	Messwellenlänge: 260 nm Sekundärwellenlängen zur Überprüfung der Reinheit: 230, 280, 340 nm
	ssDNA		
	OLIGO DNA		
RNA	RNA	Analog zur Methodengruppe DNA.	Wie bei Methodengruppe DNA.
	OLIGO RNA		
protein	BCA	Konzentrationsbestimmung von Proteinen nach Reagenzzugabe. Die Methoden sind mit dem Auswertungsverfahren Kalibrationskurve vorprogrammiert. Anzahl sowie die Sollkonzentrationen der Standards sind veränderbar.	550 nm
	BCA MICRO		595 nm
	BRADFORD		595 nm
	BRADFORD MICRO		595 nm
	LOWRY		595 nm
	LOWRY MICRO		595 nm
	PROTEIN 280 nm	Konzentrationsbestimmung von Proteinen mit Auswertung über Faktor.	Messwellenlänge: 280 nm Sekundärwellenlängen zur Überprüfung der Reinheit: 260, 340 nm
OD600	OD600	Trübungsmessung zur Bestimmung der Bakteriendichte.	595 nm
dye 550	DYE 550-dsDNA	Für Farbstoff-markierte Biomoleküle: Konzentrationsbestimmung des Biomoleküls (Nukleinsäure oder Protein) sowie des Farbstoffs in einem Messablauf. Zusätzlich wird die Einbaurrate des Farbstoffs in das Biomolekül bestimmt.	DNA/RNA/OLIGO: siehe Methodengruppen DNA und RNA PROTEIN: siehe Methode PROTEIN 280 nm Messwellenlänge für den Farbstoff: 550 nm
	DYE 550-ssDNA		
	DYE 550-RNA		
	DYE 550-OLIGO		
	DYE 550-PROTEIN		
dye 650	DYE 650-dsDNA	Analog zur Methodengruppe "dye 550".	DNA/RNA/OLIGO: siehe Methodengruppen DNA und RNA PROTEIN: siehe Methode PROTEIN 280 nm Messwellenlänge für den Farbstoff: 650 nm
	DYE 650-ssDNA		
	DYE 650-RNA		
	DYE 650-OLIGO		
	DYE 650-PROTEIN		
assay 340	ASSAY 340/1	Konzentrationsbestimmung durch Messung bei 340 nm. Die Auswerteverfahren sind frei programmierbar. Als Muster sind die Methoden bereits mit den folgenden Auswerteverfahren vorprogrammiert: 340/1: Auswertung über Faktor. 340/2: Auswertung über einen Standard. 340/3: Auswertung über Kalibrationskurve mit 6 Standards.	340 nm
	ASSAY 340/2		
	ASSAY 340/3		
assay 405	ASSAY 405/1	Analog zur Methodengruppe „assay 340“.	405 nm
	ASSAY 405/2		
	ASSAY 405/3		
assay 490	ASSAY 490/1	Analog zur Methodengruppe „assay 340“.	490 nm
	ASSAY 490/2		
	ASSAY 490/3		
absorbance	ABSORBANCE	Schnelle Extinktionsmessung nach Auswahl der Wellenlänge.	230, 260, 280, 340, 405, 490, 550, 595, 650 nm

5 Bedienung

5.3 Übersicht über den Messablauf

In diesem Kapitel erhalten Sie eine Übersicht über die wesentlichen Schritte eines Messablaufs.

5.3.1 Messung vorbereiten

1. Schalten Sie das Gerät und gegebenenfalls den Drucker ein.
Das Gerät ist sofort nach dem Einschalten messbereit.
2. Stellen Sie die Küvetten für die Messungen bereit. Beachten Sie bei der Auswahl der Küvetten die entsprechenden Hinweise (siehe *Küvetten* auf S. 57).
3. Stellen Sie die Messlösungen für die Messungen der Leerwerte, ggf. der Standards und der Proben bereit.
Messlösungen für Standards und Proben mit geringeren Extinktionen als 0,02 bis 0,03 E (dieser Bereich entspricht z.B. einer dsDNA-Konzentration von 1,0 bis 1,5 µg/ml) sollten nicht eingesetzt werden. Die Nachweisgrenze des Photometers liegt zwar wesentlich unter diesen Werten, jedoch ist der Einfluss von Störungen aus den Messlösungen (Partikel, Blasen, Trübungen) auf die Zuverlässigkeit des Ergebnisses bei diesen geringen Extinktionen sehr groß.
4. Schieben Sie die Abdeckung des Küvettenschachts nach hinten, um den Küvetten schacht zu öffnen.

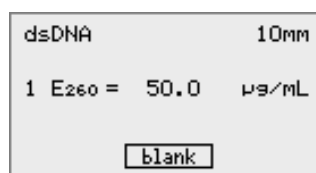
5.3.2 Methode auswählen

1. Wählen Sie mit Hilfe einer Taste die Methodengruppe aus.
In der Geräteanzeige sehen Sie eine Liste der Methoden, die in der ausgewählten Gruppe angeboten werden.
2. Wählen Sie mit den Cursor-Tasten die gewünschte Methode aus.



Sie sollten vor dem Methodenaufruf die Parameter der gewünschten Methode überprüfen und ggf. korrigieren (siehe *Parameter* auf S. 70).

3. Rufen Sie die ausgewählte Methode mit der Taste **enter** auf.
Der Startbildschirm der Methode wird angezeigt:



- Oben: Methodenname und programmierte Schichtdicke der Küvette.
- Mitte: Programmierte Auswertung (z.B. Faktor oder Information über die Auswertung mit Standards).
- Unten: Tasten für die nächste Messung. Die Tasten entfallen, wenn nicht ausreichend Platz für die Abbildung zur Verfügung steht, können in diesem Fall aber mit der Taste **enter** sichtbar gemacht werden.



Der angezeigte und in den Methodenparametern definierte Faktor bezieht sich immer auf eine Schichtdicke von 10 mm. Für die Ergebnisberechnung wird aber vom Gerät automatisch die in den Methodenparametern definierte Schichtdicke berücksichtigt. Bei anderen Schichtdicken als 10 mm müssen Sie also nicht den Faktor in den Methodenparametern ändern.

5 Bedienung

5.3.3 Messen



Beachten Sie bei jeder Messung:

- Ist genug Messlösung in der Küvette? Die Lichtweghöhe des BioPhotometer plus beträgt 8,5 mm. Die Höhe des Lichtbündels in der Küvette beträgt 1,5 mm.
- Ist die Messlösung frei von Partikeln und Blasen?
- Ist das Messfenster der Küvette frei von Verschmutzung durch Staub oder Fingerabdrücke und frei von Kratzern?
- Drücken Sie die Küvette beim Einsetzen gegen einen leichten Widerstand ganz nach unten.
- Ist die Küvette richtig positioniert? Das optische Fenster der Küvette muss zur Lichtwegrichtung zeigen. Die Richtung des Lichtwegs im BioPhotometer plus ist mit einem Pfeil auf der blauen Küvettenschachtabdeckung gekennzeichnet.
- Bei Kunststoffküvetten: Wie viele Messungen nacheinander können in der Küvette zuverlässig durchgeführt werden?
- Führen Sie für jede Küvette vor einer Proben- oder Standard-Messung eine Leerwertmessung durch, um neben dem Reagenzleerwert auch den Küvettenleerwert zu kompensieren.
- Achten Sie darauf, ob die gemessenen Extinktionswerte die Obergrenze des photometrischen Messbereichs überschreiten. Verwerfen Sie in diesem Fall das Messergebnis. Die Obergrenze des photometrischen Messbereichs ist nicht nur von der Wellenlänge (siehe *Photometer* auf S. 83), sondern auch vom Küvettenleerwert abhängig. Ultramikroküvetten mit kleiner Blende wie "TrayCell" (Hellma) bzw. "LabelGuard" (Implen) können einen Küvettenleerwert bis über $E = 1$ besitzen. Um diesen Betrag wird der verfügbare photometrische Messbereich reduziert. Den Küvettenleerwert können Sie abschätzen, wenn Sie die mit Wasser gefüllte Küvette als Probe gegen den leeren Küvettenschacht als Blank messen.
- Entfernen Sie nach der Messung die Messlösung vollständig, bevor Sie die nächste Messlösung einfüllen, um Verschleppung zu minimieren. Wenn aufgrund von hohen Konzentrationsunterschieden Verschleppung von einer Probe zur nächsten Probe zu erwarten ist, spülen Sie die Küvette zwischen den Messungen.
- Bei Temperaturunterschieden zwischen Lampe und Umgebung kann photometrische Drift auftreten. Bringen Sie daher ein Gerät, das aus einer kälteren Umgebung kommt, zunächst auf Umgebungstemperatur. Alternativ können Sie die Lampe mit wenigen Messungen auf die benötigte Temperatur bringen. Führen Sie bei langen Messreihen oder bei Messungen nach einem längeren Zeitraum eine neue Leerwertmessung durch.

Leerwert

1. Öffnen Sie den Küvettenschacht, indem Sie die blaue Abdeckung nach hinten schieben.
2. Füllen Sie die Leerwertlösung in die Küvette und setzen Sie die befüllte Küvette in den Küvettenschacht.
3. Drücken Sie die Taste **blank**.



- Oben: Methodenname und Anzeige des Probenotyps (hier: "BLANK")
- Mitte: Ergebnis (beim Leerwert: 0.000 E)



Leerwtergebnisse bleiben gespeichert, so lange die Methode geöffnet bleibt. Wir empfehlen aber, in regelmäßigen Abständen von z.B. einer Stunde den Leerwert zu überprüfen. Führen Sie dazu eine Messung mit der Leerwertlösung als Probe durch. Wenn das Messergebnis wesentlich von 0 abweicht, müssen Sie eine neue Leerwertmessung durchführen.

Standards (optional)

4. Nur bei Methoden mit Standard-Auswertung: Messen Sie nacheinander die erforderlichen Standards, wenn Sie eine neue Kalibration durchführen möchten (siehe *Methoden mit Auswertung über Standards* auf S. 65).

Proben

5. Füllen Sie Probenlösung in die Küvette und drücken Sie die Taste **sample**.

5 Bedienung

5.3.4 Methode abschließen

1. Drücken Sie eine der Methodengruppen-Tasten, um zurück in die Methodenauswahl zu gelangen und ggf. die nächste Methode aufzurufen.
2. Schalten Sie nach Abschluss aller Messungen das Gerät aus.
3. Schieben Sie die Abdeckung des Küvetenschachts nach vorn, um diesen vor Verschmutzung zu schützen.

5.4 Nukleinsäuren

Die in den Methodengruppen "DNA" und "RNA" angebotenen Methoden unterscheiden sich im wesentlichen durch den vorprogrammierten Faktor.

Zusätzlich ist für die Methoden "OLIGO DNA" und "OLIGO RNA" die Auswahl des Parameters "MOL. EINHEIT" (Molare Konzentrationseinheit) anders als bei den anderen Nukleinsäuremethoden. Dieser Parameter wird nur für spezielle Umrechnungen benötigt, die am Ende dieses Abschnitts beschrieben werden.

Als Schichtdicke der Küvette ist der Wert "10 mm" vorprogrammiert. Wenn Sie den Wert ändern, wird die geänderte Schichtdicke vom Gerät bei der Ergebnisberechnung berücksichtigt. Sie müssen den Faktor für die Auswertung also nicht ändern.

Ergebnisanzeige

```
dsDNA          #001
70.0 µg/mL
0.694E230
1.408E260
1.97260/280  0.715E280
2.03260/230  0.002E340
```

Oben: Methodenname und Probennummer
Mitte: Ergebnis und Einheit
Unten links: Extinktionsquotienten ("Ratios")
Unten rechts: Extinktionsergebnisse

Zusätzlich zum Konzentrationsergebnis und der Extinktion bei der Messwellenlänge 260 nm werden als Anhaltspunkt für die Reinheit der gemessenen Nukleinsäureprobe die Extinktionen bei 3 weiteren Wellenlängen sowie die Quotienten 260/280 und 260/230 angezeigt. Die Extinktion bei 340 nm sollte bei reinen Proben nahe Null liegen.

Trübe Messlösungen zeigen bei allen Messwellenlängen erhöhte Extinktionen, die das Messergebnis verfälschen. Dies können Sie teilweise korrigieren, wenn Sie den Parameter "KORREKTUR E₃₄₀" aktivieren. Der Extinktionswert für 340 nm wird dann in der Anzeige mit dem Cursor markiert, um auf die aktivierte Korrektur hinzuweisen.

Das zuletzt gemessene Konzentrationsergebnis kann auf Wunsch in molare Konzentrationen und / oder in Nukleinsäuremengen (Masseneinheit oder Moleinheit) umgerechnet werden:



```
dsDNA          #001
BERECHNETE MENGE
GESÄMT PROBE  █___µL
BERECHNETE MOLARITÄT
BASENPAARE   _____
MOL. MASSE   _____kDa
```

Oben: Eingabe des Gesamtvolumens der Probe
Unten: Eingabe der Basenpaare (bei einzelsträngiger Nukleinsäure: der Basen) oder der Molmasse. Eine der beiden Eingaben ist ausreichend.
Alle Eingaben müssen mit der Taste **enter** bestätigt werden.



```
dsDNA          #001
70.0 µg/mL
9.8 µg
353.5 pmol/mL
49.5 pmol
```

Anzeige der berechneten Ergebnisse für die molare Konzentration sowie der Probenmengen im Gesamtvolumen.

5 Bedienung

5.5 Proteine

Sie können Proteinkonzentrationen direkt durch Messung im UV-Bereich bei 280 nm oder nach Reagenzzugabe im VIS-Bereich messen.

5.5.1 Protein 280 nm

Die Messungen können Sie über einen in den Parametern eingegebenen Faktor oder über eine Einpunktkalibration (Messung eines Standards) auswerten.

- **Faktor:** Ab Werk ist dieser Auswertemodus vorprogrammiert. Vor der ersten Messung müssen Sie aber noch den Faktor eingeben.
Wenn Sie den Parameter "KÜVETTE" (auf 10 mm vorprogrammiert) ändern, wird die geänderte Schichtdicke vom Gerät bei der Ergebnisberechnung berücksichtigt. Sie müssen den Faktor für die Auswertung also nicht anpassen, sondern für eine Schichtdicke von 10 mm eingeben.
- **Standard:** Alternativ können sie den Auswertemodus "Standard" ("STD") programmieren (siehe *Methoden mit Auswertung über Standards* auf S. 65).

Ergebnisanzeige

```

PROTEIN 280nm  #001
0.65 mg/mL
0.245E260
0.430E280
0.002E340
  
```

Oben: Methodenname und Probennummer

Mitte: Ergebnis und Einheit

Unten rechts: Extinktionsergebnisse

Zusätzlich zum Konzentrationsergebnis und der Extinktion bei der Messwellenlänge 280 nm werden als Anhaltspunkt für die Reinheit der gemessenen Proteinprobe die Extinktionen bei 2 weiteren Wellenlängen angezeigt. Die Extinktion bei 340 nm sollte bei reinen Proben nahe Null liegen.

Trübe Messlösungen zeigen bei allen Messwellenlängen erhöhte Extinktionen, die das Messergebnis verfälschen. Die Verfälschung können Sie teilweise korrigieren, wenn Sie den Parameter "KORREKTUR E₃₄₀" aktivieren.

5.5.2 Protein nach Reagenzzugabe (Bradford, BCA, Lowry)

Sie können diese Methoden über Faktor oder Kalibration (Standardmessungen) auswerten.

- **Faktor:** Wenn Sie mit Faktor auswerten, müssen Sie bei der Eingabe berücksichtigen, dass der Faktor an die gewählte Ergebniseinheit angepasst ist.
Wenn Sie den Parameter "KÜVETTE" ändern, wird die geänderte Schichtdicke dagegen vom Gerät bei der Ergebnisberechnung berücksichtigt. Sie müssen den Faktor für die Auswertung also nicht anpassen, sondern für eine Schichtdicke von 10 mm eingeben.
- **Standard:** Für die Auswertung mittels Kalibration können sie bei diesen Methoden bis zu 10 verschiedene Standards programmieren. Das Verfahren mit Kalibration ist im nächsten Kapitel beschrieben (siehe *Methoden mit Auswertung über Standards* auf S. 65).

5 Bedienung

5.6 Methoden mit Auswertung über Standards

Für die folgenden Methoden können Sie in den Parametern eine Auswertung über Kalibration (Messungen von Standards) definieren:

- PROTEIN 280nm (hier nur Kalibration mit einem Standard möglich)
- BRADFORD, BRADFORD micro, BCA, BCA micro, LOWRY, LOWRY micro
- Methoden unter den Tasten "assays 340 / 405 / 490"

Sie können bis zu 10 Standards jeweils in Einfach- bis Dreifachmessung programmieren. Für die Auswertung mit mehreren Standards können Sie zwischen den Verfahren "Lineare Regression" (bei Kalibrationsgeraden) und "Nichtlineare Regression" (bei Kalibrationskurven) wählen. Je nach Zahl der programmierten Standards gilt:

Auswerteverfahren	Zahl der Standards
Berechnung eines Faktors	1
Lineare Regression	2 bis 10 Standards
Nichtlineare Regression	bei Einfachbestimmung: 5 bis 10 Standards bei Zweifach- oder Dreifachbestimmung: 4 bis 10 Standards

Messablauf

Standardmessungen bleiben nach Speicherung einer gültigen Kalibration unbegrenzt solange gespeichert, bis sie durch eine neue Kalibration überschrieben werden. Ausnahme: Wenn Methodenparameter geändert werden, wird die Kalibration gelöscht.

Nach Methodenaufruf (am Beispiel der Methode "BRADFORD") sehen Sie folgende Geräteanzeige:



Die mit "XXX" gekennzeichneten Werte hängen von den Standardkonzentrationen ab, die Sie in den Methodenparametern programmiert haben.

```
BRADFORD      10mm
KALIBRATIONSBEREICH
XXX - XXX mg/mL
LETZTE KALIRATION
14.07.2007 14:39
[standard] [blank] [sample]
```

Da in diesem Beispiel bereits eine Kalibration gespeichert ist, wird als Messtaste neben "standard" und "blank" auch "sample" angeboten.
Führen Sie eine Leerwertmessung durch.

```
BRADFORD      BLANK
0.000 E
[standard] [blank] [sample]
```

Messen Sie den ersten Standard (in diesem Beispiel nur als Einfachbestimmung).

```
BRADFORD      STD 1
XXX mg/mL
X.XXX E
NÄCHSTER : STD 2
XXX mg/mL
```

Messen Sie die weiteren Standards entsprechend der Aufforderung im unteren Bereich der Geräteanzeige.

```
BRADFORD      STD X
XXX mg/mL
X.XXX E
VK : 2.8%
KALIBRAT. GESPEICHERT
```

Nach Abschluss aller Standardmessungen wurde die Kalibration ausgewertet und gespeichert.
Bei Messungen von mehr als 2 Standardproben wird ein VK-Wert für die errechnete Regression angezeigt. Sollte der berechnete VK-Wert größer als 10% sein, werden Sie vor der Speicherung nach Zustimmung gefragt.
Probenmessungen werden mit der jeweils letzten gültigen Kalibration ausgewertet.

Nach Speicherung der Kalibration können sie mit einer Probenmessung fortfahren.
In der Funktionsliste (siehe *Funktionen* auf S. 74) können Sie die gespeicherten Kalibrationsdaten ansehen und ausdrucken.

5 Bedienung

5.7 OD 600

Mit der Methode "OD 600" können Sie die Bakteriendichte über eine Trübungsmessung bei etwa 600 nm messen. Da es sich um eine Streulichtmessung handelt, ist das Ergebnis abhängig von der Geometrie des Lichtwegs, die sich bei Photometern verschiedener Hersteller unterscheiden kann.

Die genaue Messwellenlänge liegt beim BioPhotometer plus bei 595 nm. Messungen mit Suspensionen von E. coli-Bakterien (Extinktionsbereich: ca. 0,1 bis 0,3 E) zeigten bei 600 nm um 1 bis 2 % höhere Extinktionswerte als bei 595 nm. Sie können einen entsprechenden Korrekturfaktor in den Parametern programmieren.

Ergebnisanzeige



Oben: Methodenname und Probennummer.

Mitte: Ergebnis.

Unten rechts: gemessene Extinktion.

5.8 Farbstoff-markierte Biomoleküle ("Dye-Methoden")

Die unter den Tasten **dye 550** und **dye 650** vorprogrammierten Methoden beinhalten Messverfahren für Farbstoff-markierte Biomoleküle. Bei diesen Messverfahren werden sowohl das Biomolekül (Nukleinsäure oder Protein) als auch der Farbstoff bei unterschiedlichen Wellenlängen gemessen und ihre Konzentrationen bestimmt. Zusätzlich wird die Einbaurrate (Konzentrationsverhältnis von Farbstoff und Biomolekül) berechnet.

5.8.1 Methodengruppe "dye 550"

Der Farbstoff wird bei 550 nm, die Nukleinsäure bei 260 nm und Proteine bei 280 nm gemessen (siehe *Methoden* auf S. 60). Eine Auswahl von 4 Farbstoffen steht in den Methodenparametern zur Verfügung:

- CY 3
- ALEXA 546
- ALEXA 555
- DYE 550

Die ersten 3 Farbstoffe werden im Labor häufiger verwendet, der letzte Farbstoff (DYE 550) ist ein Platzhalter für weitere Farbstoffe.

Für jeden Farbstoff müssen Sie die folgenden zugehörigen Daten in den Parametern programmieren. Für die Cy- und Alexa-Farbstoffe sind bereits Werte vorprogrammiert, aber änderbar:

- Extinktionskoeffizient in der Einheit $\text{cm}^{-1} \cdot \text{M}^{-1}$. Das Gerät berechnet daraus den Faktor für die Umrechnung der Extinktion in die Konzentration, bezogen auf 10 mm Küvettschichtdicke, und zeigt diesen im Startbildschirm nach dem Methodenaufruf an.
- Optional: Faktoren für die Korrekturberechnung "KORR: E₅₅₀" (Erläuterung: siehe unten).

Die Parameter für die Nukleinsäure- oder Proteinkomponente entsprechen im wesentlichen den Parametern der Methodengruppe *DNA* und *RNA* sowie für die Methode *Protein 280 nm*.

5.8.2 Methodengruppe "dye 650"

Der Farbstoff wird bei 650 nm gemessen. Hier steht eine Auswahl von 3 Farbstoffen zur Verfügung:

- CY 5
- ALEXA 647
- DYE 650

Weitere unter *Methodengruppe "dye 550"* genannten Erläuterungen gelten hier analog.

5 Bedienung

DE

Bedienungsanleitung

5.8.3 Einbaurate "FOI"

Die FOI ist ein Maß für die Konzentration des Farbstoffs relativ zur Konzentration der Nukleinsäure. Er wird nicht für Proteinmethoden angeboten. Für die Berechnung der FOI können Sie in den Methodenparametern zwischen 2 Einheiten auswählen:

- "MOLEKÜLE DYE / kb": Farbstoffmoleküle pro 1000 Nukleotide.
- "pmol / µg DNA": pmol Farbstoff pro µg Nukleinsäure.

Die Formeln für die Berechnung des FOI finden Sie separat (siehe *Berechnung der FOI* auf S. 88).

5.8.4 Korrekturfaktoren

Neben der beschriebenen Möglichkeit der Trübungskorrektur (Parameter "KORREKTUR E₃₄₀") (siehe *Nukleinsäuren* auf S. 63) kann bei den "DYE-Methoden" der Einfluss des Farbstoffs auf die Messung der Nukleinsäure bzw. des Proteins korrigiert werden. Sofern bekannt ist, in welchem Ausmaß der Farbstoff Licht auch bei den Messwellenlängen des Biomoleküls (260 und 280 nm) absorbiert, kann im Parameter "KORREKTUR E₅₅₀ (bzw. 650)" eine Korrektur vorgenommen werden. Wenn Sie diesen Parameter aktivieren, können Sie für 260 und 280 nm Korrekturfaktoren eingeben. Für Cy 3 sind z.B. vorprogrammiert:

- 0.04 für "KORR.E₅₅₀: F₂₆₀"
- 0.05 für "KORR.E₅₅₀: F₂₈₀"

Die Verwendung dieser Faktoren für die Konzentrations- und Ratio-Berechnung des Biomoleküls ist separat beschrieben (siehe *Korrektur E_{550/650}* auf S. 89).

5.8.5 Messablauf und Ergebnisanzeige

Nach dem Methodenaufruf sehen Sie folgende Anzeige (Beispiel: "DYE 550 - ssDNA"):

```
DYE 550-ssDNA    10mm
ssDNA
1 E260 = 37.0    µg/mL
CY3    150000    cm-1M-1
1 E550 = 6.667    PMOL/µL
[blank]
```

Oben: Methodenname und in den Parametern ausgewählte Küvette.

Mitte: Programmierte Werte für die Berechnung der DNA- und Farbstoffkonzentrationen: Faktor für ssDNA sowie Extinktionskoeffizient für den Farbstoff. Zusätzlich wird der aus dem Extinktionskoeffizienten errechnete Faktor, bezogen auf 10 mm Küvettschichtdicke, angezeigt.

Unten: Messtaste für die nächste Messung.

- Führen Sie eine Leerwertmessung durch.

```
DYE 550-ssDNA    BLANK
0.000 E
[blank] [sample]
```

- Führen Sie eine Probenmessung durch.

```
DYE 550-ssDNA    #001
8.3    ng/µL    ssDNA
1.20    PMOL/µL    CY3
46.0    DYE/kb    FOI
```

Oben: Methodenname und Probennummer

Mitte: Ergebnis für DNA und Farbstoff.

Unten: Ergebnis für die Einbaurate.

5 Bedienung

Wie bei den Nukleinsäuremethoden ohne Farbstoffmessung (siehe *Nukleinsäuren* auf S. 63) können Sie mit der Cursor-Taste weitere Details des Ergebnisses (Extinktionswerte und Ratio 260/280) abrufen sowie Umrechnungen in weitere Ergebnisse durchführen:

Nach Eingabe des Gesamtvolumens der Probe:	Gesamtmenge der Nukleinsäure (Masse in µg) und des Farbstoffs (in pmol).
Nach Eingabe der Basen bzw. der Molmasse:	Molare Konzentration der Nukleinsäure. Sofern auch das Gesamtvolumen der Probe eingegeben wurde: Gesamtmenge der Nukleinsäure (in pmol).

Bei der Anzeige der Extinktionswerte werden die Werte für 340 nm oder für 550 (bzw. 650) nm mit Cursor markiert, sofern in den Parametern die "KORREKTUR E₃₄₀" oder die "KORREKTUR E₅₅₀ (bzw. 650)" aktiviert wurde.

5.9 Methoden bei 340, 405 und 490 nm

Für jede Wellenlänge sind 3 Methodenplätze vorgesehen. Als Muster sind folgende Auswerteverfahren vorprogrammiert. Sie können diese Methoden aber jederzeit anpassen:

Beispiel: "assay 340"

- ASSAY 340/1: Auswertung über Faktor
- ASSAY 340/2: Auswertung über Einpunktkalibration
- Assay 340/3: Auswertung über Kurvenkalibration

Für die Auswertung über Faktor gilt:

- Wenn Sie den Parameter "KÜVETTE" (auf 10 mm vorprogrammiert) ändern, wird die geänderte Schichtdicke vom Gerät bei der Ergebnisberechnung berücksichtigt. Sie müssen den Faktor für die Auswertung also nicht anpassen, sondern für eine Schichtdicke von 10 mm eingeben.
- Beachten Sie bei der Eingabe des Faktors, dass er an die gewählte Ergebniseinheit angepasst ist.

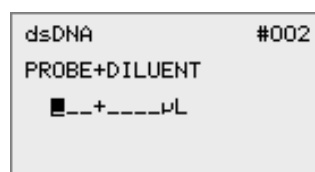
5.10 Verdünnung

Probenverdünnungen können Sie vor Beginn einer Messung mit der Taste **parameter/dilution** eingeben. Bei der Ergebnisberechnung wird dann der Verdünnungsfaktor automatisch berücksichtigt.

Für das folgende Beispiel wurde bereits die Methode aufgerufen und ein Leerwert gemessen:



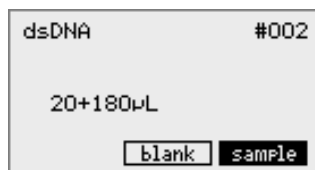
1. Rufen Sie mit der Taste **parameter/dilution** die Verdünnungseingabe auf.



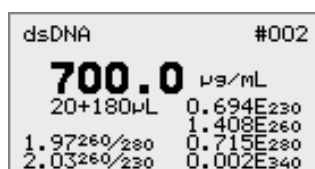
2. Geben Sie die Volumina der Probe und des Verdünnungspuffers ("Diluent") ein und bestätigen Sie jede Eingabe mit **enter**.

Danach gelangen Sie zurück in den Messablauf und können eine Probenmessung starten.

5 Bedienung



3. Starten Sie eine Probenmessung mit der Taste **sample**.



4. Das Ergebnis wird unter Berücksichtigung der eingegebenen Probenverdünnung berechnet.

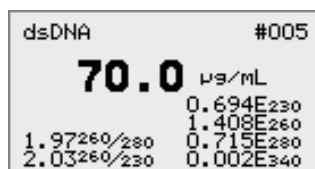
Die Verdünnung bleibt für die Berechnung aller weiteren Probenergebnisse erhalten, bis sie überschrieben wird. Zum Löschen der Verdünnung geben Sie für "PROBE" und "DILUENT" jeweils "0" ein oder löschen Sie die Werte mit den Tasten **clear** und **enter**.

5.11 Probennummer

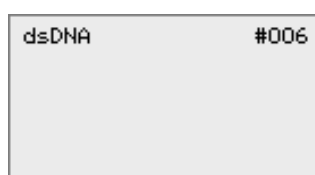
Die Geräteanzeige für Messergebnisse enthält oben rechts die Probennummer. Sie wird für jede Methode separat fortlaufend gezählt und nach jedem Neuaufruf einer Methode wieder auf "1" gesetzt.

Sie können die Probennummer vor einer Messung ändern.

Für das folgende Beispiel wurden bereits 5 Proben gemessen:

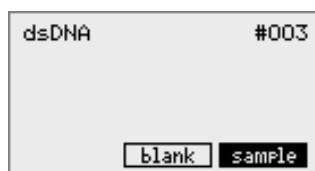


1. Rufen Sie mit der Taste **function/-/No.** die Eingabe der Probennummer auf.

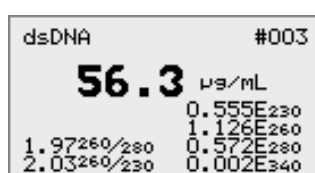


2. Geben Sie die gewünschte Probennummer für die folgende Probe (hier "3") ein und bestätigen Sie die Eingabe mit **enter**.

Sie gelangen zurück in den Messablauf und können eine Probenmessung starten.



3. Starten Sie mit der Taste **sample** eine Probenmessung.



4. Dem Probenergebnis wird die Probennummer "3" zugeordnet. Alle weiteren Proben werden fortlaufend hochgezählt.

6 Parameter und Funktionen

6.1 Parameter

Die Methoden des BioPhotometer plus bzw. die entsprechenden Parameter sind bereits ab Werk vorprogrammiert. Sie können diese Parameter ändern.

6.1.1 Parameter einer Methode ansehen, ändern und speichern

1. Wählen Sie die gewünschte Methodengruppe mit der entsprechenden Methodentaste.
2. Wählen Sie die gewünschte Methode mit den Cursor-Tasten aus.
3. Rufen Sie mit **parameter/dilution** die zu dieser Methode gehörenden Parameter auf.
4. Gehen Sie mit den Cursor-Tasten durch die Parameterliste.
5. Ändern Sie Parameter, sofern erforderlich, und bestätigen Sie die Änderungen mit **enter**.

Es gibt zwei Arten von Parametereingaben:

- Auswahlparameter: Auswahl mit Cursor-Tasten.
- Zahlenwerte: Eingabe mit Ziffertasten.



Jede eingegebene Parameter wird erst durch Bestätigung mit der Taste **enter** gespeichert.

6. Verlassen Sie die Parameterliste durch erneutes Drücken von **parameter/dilution**. Sie gelangen in die Methodenauswahl zurück.

6.1.2 Parameterübersicht und -beschreibung

Parameter	Eingabe	Erläuterung
KÜVETTE	Auswahl: 10, 5, 2, 1 oder 0,2 mm	Optische Schichtdicke der Küvette. Der Faktor zur Umrechnung der Extinktion in die Konzentration wird intern entsprechend korrigiert.
EINHEIT	Auswahl: Je nach Methode unterschiedliche Einheiten.	Ergebniseinheit für die Methode. Bei einigen Methoden entfällt diese Auswahl, da eine Einheit fest vorprogrammiert ist.
MOL. EINHEIT	Auswahl: Je nach Methode unterschiedliche Einheiten.	Molare Einheit, nur für Nukleinsäuremethoden: für die Umrechnung von Konzentrationseinheiten in molare Konzentrationen.
BERECHNUNG	Auswahl: • STD • FAKTOR	Auswerteverfahren für die Berechnung der Probenkonzentration: • mit Festfaktor • mit Standards (Kalibration)
FAKTOR	Zahleneingabe (5 Stellen)	Faktor für die Umrechnung der Extinktion in die Konzentration. Die Zahl der Nachkommastellen des Faktors bestimmt die Zahl der Nachkommastellen des Ergebnisses. Der Faktor muss für eine Küvettschichtdicke von 10 mm eingegeben werden.
STD ANZAHL 1-10	Zahleneingabe (1 bis 10)	Zahl der Standards mit unterschiedlichen Konzentrationen, die für die Kalibration eingesetzt werden.
STD MESSUNG	Auswahl: 1x, 2x oder 3x	Mehrfachbestimmung von Standards.
REGRESSION	Auswahl: Lineare und nichtlineare Regression	Auswerteverfahren der Mehrpunktkalibration. • Lineare Regression ist möglich bei: 2 bis 10 Standards • Nichtlineare Regression ist möglich bei: (Einfachbestimmung:) 5 bis 10 Standards. (Zweifach- oder Dreifachbestimmung:) 4 bis 10 Standards.

6 Parameter und Funktionen

DE

Bedienungsanleitung

Parameter	Eingabe	Erläuterung
STD 1 bis STD 10	Zahleneingaben (Ziffern und Dezimalpunkt, 5 Stellen)	Sollkonzentration für jeden Standard. Einheit gemäß der Eingabe in Parameter-Display 1. Die Zahl der Nachkommastellen der Sollkonzentration des ersten Standards bestimmt die Zahl der Nachkommastellen des Ergebnisses. Die Konzentrationen müssen in aufsteigender Folge eingegeben werden.
KORREKTUR	Auswahl: <ul style="list-style-type: none"> KEINE KORREKTUR KORREKTUR E_{340} KORREKTUR E_{550} (bzw. 650) 	KORREKTUR E_{340} : Kann zur partiellen Korrektur des Einflusses von leichten Trübungen der Messlösung eingesetzt werden: Die bei 340 nm gemessene Extinktion wird von den Extinktionsergebnissen bei 230, 260 und 280 nm vor der weiteren Auswertung abgezogen. KORREKTUR E_{550} (bzw. 650): Kann bei den "Dye-Methoden" zur Korrektur des Einflusses des Farbstoffs auf die Messextingtionen des Biomoleküls (Nukleinsäure bzw. Protein) eingesetzt werden: Die bei 550 (bzw. 650) nm gemessene Extinktion des Farbstoffs wird mit einem Korrekturfaktor für 260 bzw. 280 nm multipliziert. Das Resultat wird von den Extinktionen des Biomoleküls bei 260 bzw. 280 nm vor der weiteren Auswertung für das Biomolekül abgezogen (siehe <i>Farbstoff-markierte Biomoleküle ("Dye-Methoden")</i> auf S. 66). Die Korrekturfaktoren werden nach Auswahl des Farbstoffs weiter unten in der Parameterliste eingegeben.
CY3 (bzw. Cy5) ALEXA	Auswahl	Bei "Dye-Methoden": Auswahl des Farbstoffs (siehe <i>Farbstoff-markierte Biomoleküle ("Dye-Methoden")</i> auf S. 66).
EXT.KOEFF.	Zahleneingabe (6 Stellen)	Bei "Dye-Methoden": Eingabe des Extinktionskoeffizienten für den ausgewählten Farbstoff in der Einheit " $\text{cm}^{-1} \cdot \text{M}^{-1}$ ".
KORREKTUR E_{550} (650): F_{260} KORREKTUR E_{550} (650): F_{280}	Zahleneingabe (5 Stellen)	Nur, wenn bei "Dye-Methoden" der Parameter KORREKTUR E_{550} (bzw. 650) aktiviert ist: Eingabe der Korrekturfaktoren zur Berücksichtigung des Einflusses des Farbstoffs auf die Messextingtionen des Biomoleküls (siehe Beschreibung des Parameters KORREKTUR E_{550} (bzw. 650) weiter oben).
BERECHNUNG FOI	Auswahl: <ul style="list-style-type: none"> MOLEKÜLE DYE / kb pmol / μg DNA (bzw. RNA) 	Bei "Dye-Methoden": Auswahl des Verfahrens für die Berechnung der Einbaurate (siehe <i>Farbstoff-markierte Biomoleküle ("Dye-Methoden")</i> auf S. 66).

6.1.3 Ab Werk vorprogrammierte Parameter

Nukleinsäuren und OD 600

Parameter	dsDNA	ssDNA	OLIGO DNA	RNA	OLIGO RNA	OD 600
KÜVETTE	10 mm	10 mm	10 mm	10 mm	10 mm	10 mm
EINHEIT	$\mu\text{g/mL}$	$\mu\text{g/mL}$	$\mu\text{g/mL}$	$\mu\text{g/mL}$	$\mu\text{g/mL}$	
MOL. EINHEIT	pmol/mL	pmol/mL	pmol/ μL	pmol/mL	pmol/ μL	
FAKTOR	50.0	37.0	30.0	40.0	30.0	1.000
KORREKTUR	KEINE KORREKTUR	KEINE KORREKTUR	KEINE KORREKTUR	KEINE KORREKTUR	KEINE KORREKTUR	

6 Parameter und Funktionen

Proteine

Parameter	BRAD-FORD	BRAD-FORD micro	BCA	BCA micro	LOWRY	LOWRY micro	PROTEIN 280 nm
KÜVETTE	10 mm	10 mm	10 mm	10 mm	10 mm	10 mm	10 mm
EINHEIT	µg/ml	µg/ml	µg/ml	µg/ml	µg/ml	µg/ml	mg/ml (keine Eingabe, fest programmiert)
KORREKTUR							KEINE KORREKTUR
BERECHNUNG	STD	STD	STD	STD	STD	STD	FAKTOR
FAKTOR							-----
STD ANZAHL 1-10	6	6	8	5	6	6	
STD MESSUNG	1x	1x	1x	1x	1x	1x	
REGRESSION	NICHT LINEAR	NICHT LINEAR	NICHT LINEAR	NICHT LINEAR	NICHT LINEAR	NICHT LINEAR	
STD 1	100	1.00	25	0.50	100	1.00	
STD 2	250	2.5	125	2	250	2.5	
STD 3	500	5	250	5	500	5	
STD 4	750	10	500	10	750	10	
STD 5	1000	15	750	20	1000	15	
STD 6	1500	25	1000		1500	25	
STD 7			1500				
STD 8			2000				

Methodengruppe "dye 550"

Parameter	DYE 550-dsDNA	DYE 550-ssDNA	DYE 550-RNA	DYE 550-OLIGO	DYE 550-PROTEIN
KÜVETTE	10 mm	10 mm	10 mm	10 mm	10 mm
EINHEIT (für die Nukleinsäure)	µg/mL	µg/mL	µg/mL	µg/mL	mg/ml (Protein: keine Eingabe, fest programmiert)
MOL. EINHEIT (für die Nukleinsäure)	pmol/mL	pmol/mL	pmol/mL	pmol/µL	
FAKTOR (für die Nukleinsäure bzw. Protein)	50.0	37.0	40.0	30.0	-----
KORREKTUR	KEINE KORREKTUR	KEINE KORREKTUR	KEINE KORREKTUR	KEINE KORREKTUR	KEINE KORREKTUR
Farbstoffauswahl	CY3	CY3	CY3	CY3	CY3
EXT.KOEFF.	(für Cy3:) 150000	(für Cy3:) 150000	(für Cy3:) 150000	(für Cy3:) 150000	(für Cy3:) 150000
BERECHNUNG FOI	MOLEKÜLE DYE / kb	MOLEKÜLE DYE / kb	MOLEKÜLE DYE / kb	MOLEKÜLE DYE / kb	

6 Parameter und Funktionen

Die Einheit für den Farbstoff ist mit "pmol/μl" fest vorgegeben und daher nicht in den Parametern programmierbar.

Für die verschiedenen Farbstoffe sind als Extinktionskoeffizienten und Korrekturfaktoren (für Parameter KORREKTUR E₅₅₀) die folgenden Farbstoff-spezifischen Werte vorprogrammiert:

Parameter	CY3	ALEXA546	ALEXA555	DYE550
EXT.KOEFF.	150000	-----	150000	-----
KORREKTUR E ₅₅₀ : F ₂₆₀	0.04	0.0	0.04	0.0
KORREKTUR E ₅₅₀ : F ₂₈₀	0.05	0.0	0.04	0.0

Die Werte für ALEXA546 waren uns zum Zeitpunkt der Erstellung dieser Anleitung nicht bekannt; bitte sprechen Sie wegen dieser Werte den Hersteller (Fa. Invitrogen) an.

Methodengruppe "dye 650"

Die Parameter entsprechen weitgehend denen der Methodengruppe "dye 550". Als Vorauswahl für den Farbstoff ist hier Cy 5 programmiert. Für die Farbstoff-spezifischen Werte gilt:

Parameter	CY5	ALEXA647	DYE650
EXT.KOEFF.	250000	239000	-----
KORREKTUR E ₆₅₀ : F ₂₆₀	0.0	0.0	0.0
KORREKTUR E ₆₅₀ : F ₂₈₀	0.05	0.03	0.0

assay 340

Parameter	ASSAY 340 / 1	ASSAY 340 / 2	ASSAY 340 / 3
KÜVETTE	10 mm	10 mm	10 mm
EINHEIT	μg/ml	μg/ml	μg/ml
BERECHNUNG	FAKTOR	STD	STD
FAKTOR	-----		
STD ANZAHL 1-10		1	6
STD MESSUNG		2x	1x
REGRESSION			NICHT LINEAR
STD 1		-----	-----
STD 2			-----
STD 3			-----
STD 4			-----
STD 5			-----
STD 6			-----

assay 405 und assay 490

Die Parameter entsprechen denen der Methodengruppe "assay 340".

absorbance

Sie legen die Wellenlänge direkt im Startbildschirm der Methode fest. Wenn Sie die Parameterliste aufrufen, erhalten Sie zur Information nur die Küvettschichtdicke und die Einheit. Beide Parameter sind in dieser Methode aber nicht veränderbar. Eine automatische Umrechnung auf andere Küvettschichtdicken findet - anders als in den anderen Methoden - hier also nicht statt.

6 Parameter und Funktionen

6.2 Funktionen

1. Drücken Sie innerhalb der Methodenauswahl die Taste **function/-/No.**.
Sie erreichen eine Liste von allgemeinen Gerätefunktionen. Im Methodenablauf oder im Parametermodus hat diese Taste eine andere Funktion (Eingabe der Probennummer bzw. Eingabe eines Punktes bei Werteeingaben).
2. Wählen Sie in dieser Funktionsliste und ggf. in Unterlisten (z.B. Ergebnisliste) die gewünschte Funktion wie in der Parameterliste (siehe *Parameter einer Methode ansehen, ändern und speichern* auf S. 70) mit den Cursor-Tasten aus und rufen Sie sie mit der Taste **enter** auf.
3. Drücken Sie wiederum die Taste **function/-/No.**, um aus einer Unterebene der Funktionen (z.B. Aufruf von gespeicherten Ergebnissen in der Funktion "ERGEBNISSE") wieder in die höhere Ebene der Funktionsliste und schließlich zurück in die Methodenauswahl zu gelangen.

Tab. 2: Funktionsübersicht und -beschreibung

Funktion	Erläuterung
ERGEBNISSE	Anzeige der letzten 100 Ergebnisse (das zuletzt gemessene Ergebnis wird zuerst angezeigt). Bei Ergebnissen mit Informationen über mehr als eine Geräteanzeige (Detailinformationen bei Nukleinsäuren und "Dye-Methoden") gelangen Sie mit den Cursor-Tasten in die Detailanzeigen. Mit der Taste enter drucken Sie das ausgewählte Ergebnis aus.
STANDARDS	Anzeige der gespeicherten Kalibrationsdaten bei Methoden mit Auswertung über Standards. Auch in dieser Liste blättern Sie mit den Cursor-Tasten, bis Sie die Kalibrationsdaten der gewünschten Methode in der Geräteanzeige sehen.
PRÄZISIONSMESSUNG	Messung und Präzisionsberechnung von 10 aufeinanderfolgenden Messwerten einer Probe. Es wird das Methodenprogramm der zuletzt aufgerufenen Methode benutzt.
PHOTOMETERTEST NEUE MESSUNG LETZTE MESSUNG	Überprüfung des Photometers mit einem Filtersatz von Eppendorf (siehe <i>Photometer überprüfen</i> auf S. 77). Sie können eine neue Überprüfung starten (NEUE MESSUNG) oder die Ergebnisse der letzten Überprüfung aufrufen (LETZTE MESSUNG).
SPRACHE DEUTSCH LANGUAGE ENGLISH LANGUAGE U.S.ENGL LANGUE FRANCAISE	Anwahl der Sprachversion. "ENGLISH" und "U.S.ENGLISH" unterscheiden sich durch das Format des Datums.
DATUM	Eingabe des Datums. Speichern mit enter .
UHRZEIT	Eingabe der Uhrzeit. Speichern mit enter .
DRUCKER	Auswahl des Druckers: <ul style="list-style-type: none"> • DPU 414: Anschluss des Eppendorf Thermodruckers. • SERIELL: Anschluss eines anderen Druckers. In diesem Fall müssen bestimmte Anforderungen an den Drucker beachtet werden. Näheres erfahren Sie von Ihrem Eppendorf-Partner.
SERVICE	Die Funktion ist nur für den Eppendorf Service zugänglich.

7 Instandhaltung

7.1 Reinigung



Gefahr! Stromschlag durch eintretende Flüssigkeit.

- ▶ Schalten Sie das Gerät aus und trennen Sie es von der Stromversorgung, bevor Sie mit der Reinigung oder Desinfektion beginnen.
- ▶ Lassen Sie keine Flüssigkeiten in das Gehäuseinnere gelangen.
- ▶ Führen Sie keine Sprühdesinfektion durch.
- ▶ Schließen Sie das Gerät nur vollständig getrocknet wieder an die Stromversorgung an.

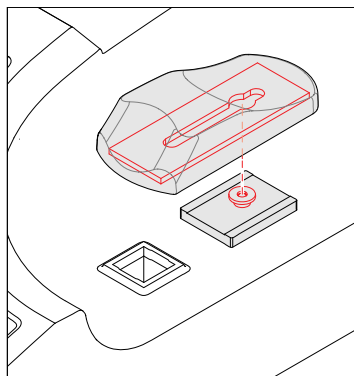
Vorsicht! Korrosion durch aggressive Reinigungs- und Desinfektionsmittel.

- ▶ Verwenden Sie weder ätzende Reinigungsmittel, noch aggressive Lösungs- oder schleifende Poliermittel.
- ▶ Inkubieren Sie das Zubehör nicht längere Zeit in aggressiven Reinigungs- oder Desinfektionsmitteln.

1. Schalten Sie das Gerät aus und ziehen Sie den Netzstecker ab.
2. Wischen Sie die Oberflächen mit einem Tuch ab, das Sie mit einem milden Reinigungsmittel befeuchtet haben.
3. Reinigen Sie den Küvettenschacht nur mit einem feuchten, fusselfreien Wattestäbchen. Vermeiden Sie, dass Flüssigkeit in den Küvettenschacht gelangt.

7.1.1 Küvettenschachtabdeckung reinigen

Wenn Sie nicht nur die direkt zugängliche Oberfläche der Küvettenschachtabdeckung reinigen möchten, können Sie die Abdeckung auch ausbauen.



1. Schieben Sie die Abdeckung ganz nach vorne.
2. Ziehen Sie die Abdeckung im vorderen Bereich leicht nach oben und schieben Sie sie dabei langsam nach hinten.
Nach einigen Millimetern können Sie die Abdeckung ganz abheben.
3. Reinigen Sie die Abdeckung sowie den Abdeckungshalter mit einem Tuch oder einem fusselfreien Wattestäbchen, das Sie mit einem milden Reinigungsmittel befeuchtet haben.
4. Setzen Sie die Abdeckung wieder auf den Abdeckungshalter, wie hier dargestellt.
Der Knopf des Abdeckungshalters passt exakt in die kreisförmig vergrößerte Aussparung an der Unterseite der Abdeckung.



Schieben Sie die blaue Abdeckung bei Nichtgebrauch des Photometers über den Küvettenschacht, um ihn vor Staub und anderen Verschmutzungen zu schützen.

7 Instandhaltung

7.2 Desinfektion / Dekontamination



Gefahr! Stromschlag durch eintretende Flüssigkeit.

- ▶ Schalten Sie das Gerät aus und trennen Sie es von der Stromversorgung, bevor Sie mit der Reinigung oder Desinfektion beginnen.
- ▶ Lassen Sie keine Flüssigkeiten in das Gehäuseinnere gelangen.
- ▶ Führen Sie keine Sprühdesinfektion durch.
- ▶ Schließen Sie das Gerät nur vollständig getrocknet wieder an die Stromversorgung an.

1. Schalten Sie das Gerät aus und ziehen Sie den Netzstecker ab.
2. Reinigen Sie das Gerät vor der Desinfektion mit einem milden Reinigungsmittel wie zuvor beschrieben (siehe *Reinigung* auf S. 75).
3. Wählen Sie eine Desinfektionsmethode, die den für Ihren Anwendungsbereich geltenden gesetzlichen Bestimmungen und Richtlinien entspricht.
4. Verwenden Sie z.B. Alkohol (Ethanol, Isopropanol) oder alkoholhaltige Desinfektionsmittel.
5. Wischen Sie die Oberflächen mit einem Tuch ab, welches Sie mit Desinfektionsmittel befeuchtet haben.
6. Wenn zur Desinfektion die Küvettenschachtabdeckung ausgebaut werden muss, verfahren Sie zum Ausbau und Zusammenbau wie im Abschnitt *Reinigung* beschrieben (siehe *Küvettenschachtabdeckung reinigen* auf S. 75).
7. Die demontierte Küvettenschachtabdeckung können Sie mittels Sprühdesinfektion desinfizieren.

7.3 Dekontamination vor Versand

Wenn Sie das Gerät im Reparaturfall zum autorisierten Technischen Service oder im Entsorgungsfall zu Ihrem Vertragshändler schicken, beachten Sie bitte Folgendes:



Warnung! Gesundheitsgefahr durch kontaminiertes Gerät.

1. Beachten Sie die Hinweise der Dekontaminationsbescheinigung. Sie finden diese als PDF-Datei auf unserer Homepage (www.eppendorf.de/dekontamination).
2. Dekontaminieren Sie alle Teile, die Sie versenden möchten.
3. Legen Sie der Sendung die vollständig ausgefüllte Dekontaminationsbescheinigung für Warenrücksendungen bei (inkl. Seriennummer des Gerätes).

7.4 Sicherungen austauschen



Gefahr! Stromschlag.

- ▶ Schalten Sie das Gerät aus und ziehen Sie den Netzstecker, bevor Sie das Gerät öffnen, um die Sicherungen zu wechseln. Diese Arbeiten dürfen nur durch entsprechend geschultes Personal durchgeführt werden.

1. Schalten Sie das Gerät aus und ziehen Sie den Netzstecker ab.
2. Oberhalb des Netzanschlusses befindet sich der Sicherungshalter **7** (siehe Abb. 1 auf S. 52). Drücken Sie den kleinen federnden Rasthebel an der Unterseite des Sicherungshalters nach oben und ziehen Sie den Halter heraus.
3. Tauschen Sie die Sicherungen aus (s. Bestellinformationen in englischer Bedienungsanleitung).
4. Schieben Sie den Sicherungshalter wieder in die Aufnahme hinein, bis der Rasthebel einrastet.
5. Schließen Sie den Netzstecker wieder an.

7 Instandhaltung

7.5 Photometer überprüfen

Zur Überprüfung der photometrischen Richtigkeit und der Wellenlängenrichtigkeit wird von Eppendorf ein Filtersatz (Sekundär-UV-VIS-Filter) angeboten. Der Satz enthält drei Filter („Sample A1“, „Sample A2 und „Sample A3“) zur Überprüfung der photometrischen Richtigkeit sowie zwei Filter („Sample 260 nm“ und „Sample 280 nm“) zur Überprüfung der Wellenlängenrichtigkeit. Die Extinktionen der Filter werden gegen ein Leerwertfilter („Blank A0“) gemessen. Zusätzlich zu Informationen über die Richtigkeit erhalten Sie auch Informationen über die Präzision: Aus den jeweils 10 Messungen pro Wellenlänge wird neben dem Mittelwert auch der VK-Wert berechnet.

Zur Messung werden Leerwertfilter (für die Leerwertmessung) und anschließend die Prüffilter wie Küvetten in den Küvetenschacht eingesetzt. Die für die Prüffilter gemessenen Extinktionswerte werden gegen den zulässigen Wertebereich verglichen. Die Grenzwerte für den zulässigen Bereich sind für die einzelnen Filter in einer Tabelle im Deckel des Filterkastens abgedruckt (siehe in der Tabelle: „X.XXX – X.XXX E“).

Tab. 3: Deckel-Innenseite des Filterkastens (Muster)

BioPhotometer 6131 / 6132				Function : PHOTOMETERTEST		
Secondary / Sekundär - UV - VIS - Filter				Order No./Best.Nr.: 6131 928.007		
Limits Grenzwerte		measured against Blank A 0 at approx. 20°C gemessen gegen Blank A 0 bei ca. 20°C				
6131	914.XXX	916.XXX	917.XXX	921.XXX	922.XXX	923.XXX
Filter	Blank	Sample	Sample	Sample	Sample	Sample
Type	A 0	260 nm	280 nm	A 1	A 2	A 3
	Reference	Systematic error of wavelength Systematische Messabweichung der Wellenlänge traceable to NIST / rückführbar auf NIST		Systematic error of photometer Systematische Messabweichung des Photometers traceable to NIST / rückführbar auf NIST		
Limiting values (A) / Grenzwerte (E)						
230 nm	0.000			X.XXX - X.XXX	X.XXX - X.XXX	X.XXX - X.XXX
260 nm	0.000	X.XXX - X.XXX		X.XXX - X.XXX	X.XXX - X.XXX	X.XXX - X.XXX
280 nm	0.000		X.XXX - X.XXX	X.XXX - X.XXX	X.XXX - X.XXX	X.XXX - X.XXX
320 nm	0.000			X.XXX - X.XXX	X.XXX - X.XXX	X.XXX - X.XXX
340 nm	0.000			X.XXX - X.XXX	X.XXX - X.XXX	X.XXX - X.XXX
405 nm	0.000			X.XXX - X.XXX	X.XXX - X.XXX	X.XXX - X.XXX
490 nm	0.000			X.XXX - X.XXX	X.XXX - X.XXX	X.XXX - X.XXX
550 nm	0.000			X.XXX - X.XXX	X.XXX - X.XXX	X.XXX - X.XXX
562 nm	0.000			X.XXX - X.XXX	X.XXX - X.XXX	X.XXX - X.XXX
595 nm	0.000			X.XXX - X.XXX	X.XXX - X.XXX	X.XXX - X.XXX
650 nm	0.000			X.XXX - X.XXX	X.XXX - X.XXX	X.XXX - X.XXX
		Random error of wavelength Zufällige Messabweichung der Wellenlänge		Random error of photometer Zufällige Messabweichung des Photometers		
Limiting values CV (%) / Grenzwerte VK (%)						
230 - 650 nm		≤ 3.0 %		≤ 3.0 %	≤ 1.0 %	≤ 1.5 %
Please protect against dust, heat and liquid. The limits are valid for max. 2 years. Bitte vor Staub, Hitze und Flüssigkeiten schützen. Die Grenzwerte gelten für max. 2 Jahre.				Date Datum	Signature Unterschrift	eppendorf

7 Instandhaltung

7.5.1 Prüfablauf



- Prüfung bei ca. 20°C durchführen.
- Filter nur kurzfristig dem Filterkasten entnehmen und vor Verschmutzung oder Beschädigung der Filteroberflächen schützen.
- Filter vor Staub, Hitze, Flüssigkeit und aggressiven Dämpfen schützen.
- Filter immer so einsetzen, dass der Aufkleber mit der Filterbezeichnung zum Anwender hin (zum Empfänger hin) zeigt.

1. Rufen Sie die Funktion PHOTOMETERTEST / NEUE MESSUNG auf.
2. Wählen Sie das Prüffilter aus und bestätigen Sie die Auswahl mit "enter".
3. "SAMPLE 260" oder "SAMPLE 280" für die Messung der Wellenlängenrichtigkeit bei 260 bzw. 280 nm.
4. "SAMPLE A1", "SAMPLE A2" oder "SAMPLE A3" für die Messung der photometrischen Richtigkeit bei 230, 260, 280, 340, 405, 490, 550, 595 und 650 nm.
5. Folgen Sie den Anweisungen in der Geräteanzeige für die Messung des Leerwerts ("A0") und des Prüffilters. Das Gerät führt jeweils 10 Messungen durch und zeigt anschließend die Mittelwerte und VK-Werte für die gemessenen Extinktionen bei den jeweiligen Wellenlängen an.
6. Drücken Sie entsprechend den Anweisungen in der Geräteanzeige "enter", um die Werte angezeigt und schließlich - sofern ein Drucker angeschlossen ist - ausgedruckt zu bekommen.
7. Vergleichen Sie die Mittelwerte und VK-Werte gegen die zulässigen Bereiche in der mitgelieferten Tabelle.

Sollten die gemessenen Werte nicht mit dem zulässigen Wertebereich übereinstimmen, wenden Sie sich bitte an den Eppendorf Service. Die Filter sollten nach 2 Jahren von Eppendorf neu kalibriert werden.

8 Problembehebung

8.1 Ergebniskennzeichnungen

Ergebniskennzeichnung	Mögliche Ursache	Maßnahme
0.015 E ₃₄₀ ◄	Nur bei Nukleinsäure-Methoden und "PROTEIN 280 nm": Markierung '◄' des E ₃₄₀ -Wertes weist darauf hin, dass die Extinktionswerte für 230, 260 und 280 nm mit der Extinktion bei 340 nm korrigiert werden (Parameter "KORREKTUR E ₃₄₀ " ist aktiviert).	Keine. Kennzeichnung ist nur ein Hinweis.
0.015 E ₅₅₀ ◄ oder 0.015 E ₆₅₀ ◄	Nur bei den Methodengruppen "Dye 550" und "Dye 650": Markierung '◄' des E ₅₅₀ -Wertes bzw. des E ₆₅₀ -Wertes weist darauf hin, dass die Extinktionswerte für 260 und 280 nm mit der Extinktion bei 550 bzw. 650 nm korrigiert werden (Parameter "KORREKTUR E ₅₅₀ (bzw. 650)" ist aktiviert).	Keine. Kennzeichnung ist nur ein Hinweis.
++++++	Die gemessene Extinktion liegt über 3 E.	<ul style="list-style-type: none"> ▶ Probe verdünnen. ▶ Küvettenvolumen prüfen (Lichtweghöhe ist 8,5 mm). ▶ Küvettschaft reinigen (siehe <i>Reinigung</i> auf S. 75) und Küvette richtig herum einsetzen: Messfenster in Richtung des Lichtwegs. Richtung des Lichtwegs ist auf der blauen Küvettschaftabdeckung mit einem Pfeil markiert. ▶ Küvette aus einem Material benutzen, das für Licht der Messwellenlängen optisch durchlässig ist (für Messungen im UV z.B.: Eppendorf UVette).
-----	(Anstelle eines Wertes für die Ratio:) Ratio kann nicht berechnet werden, da einer der für die Berechnung herangezogenen Extinktionswerte 0 E oder > 3 E beträgt.	Messung wiederholen, evtl. mit verdünnter Probe.

8 Problembehebung

8.2 Fehlermeldungen

Geräteanzeigen mit Fehlermeldungen können Sie mit **enter** verlassen.

Wenn bestimmte Parameter unvollständig oder fehlerhaft programmiert sind, wird in der Anzeige das Symbol für die Parameter-Taste eingeblendet. In diesen Fällen drücken Sie stattdessen die Taste **parameter/dilution**. Sie gelangen direkt in die Parameterliste, um hier den Fehler korrigieren zu können.

Fehlertext	Erläuterung / Ursache	Maßnahme
(Parameter) BITTE PROGRAMMIEREN z.B.: FAKTOR BITTE PROGRAMMIEREN	Methodenparameter wurden nicht richtig oder unvollständig programmiert.	▶ Parameter überprüfen und korrigieren (siehe <i>Parameter</i> auf S. 70).
ZUERST BLANK MESSEN	Für die aufgerufene Methode ist kein Leerwert gespeichert.	▶ Leerwert messen.
ZUERST STANDARD MESSEN	Für die aufgerufene Methode ist keine Kalibration gespeichert.	▶ Standards messen, um gültige Kalibration zu speichern.
KEINE STD-METHODE	Die Taste standard wurde gedrückt, obwohl für die Methode keine Kalibrationsauswertung programmiert ist.	▶ In den Methodenparametern Auswertung mit Standards programmieren oder Methode ohne Standards erneut messen.
AUSSERHALB DER KALIBRATION	Nur bei nichtlinearer Kalibrationsauswertung: Die gemessene Probenextinktion liegt außerhalb des Extinktionsbereichs der Standards.	▶ Nur Proben messen, die innerhalb des Kalibrationsbereichs liegen. Bei zu hoch konzentrierten Proben: Proben verdünnen.
GEMESSENE WERTE NICHT MONOTON	Bei Mehrpunktkalibration: Die Extinktionswerte der Standards ergeben keine monoton steigende oder fallende Folge.	▶ Standards überprüfen und nochmals in richtiger Reihenfolge (aufsteigende Konzentration) messen.
KALIBRATIONSKURVE IST NICHT MONOTON	Die Kalibrationskurve ist nicht monoton steigend oder fallend oder hat einen Wendepunkt.	▶ Standards überprüfen, ggf. neu ansetzen und erneut messen.
STANDARDS AUFSTEIGEND PROGRAMMIEREN	Bei Mehrpunktkalibration wurden die Sollkonzentrationen der Standards nicht in aufsteigender Folge programmiert.	▶ Sollkonzentrationen der Standards in aufsteigender Folge programmieren.
VK IST GRÖßER ALS 10%	Bei der Berechnung der Kalibration ist der "VK" größer als 10%.	▶ Standards überprüfen, ggf. neu ansetzen und erneut messen.
KALIBRATION NICHT OK!	Die gemessenen Standardextinktionen ergeben keine gültige Kalibrationsauswertung.	▶ Standards überprüfen und erneut messen.
GEMESSENE WERTE NICHT PLAUSIBEL	Wert ist nicht darstellbar; mögliche Ursachen bei Messungen mit Standards: <ul style="list-style-type: none"> • Standard bei Einpunktkalibration hat die Extinktion "0" • Berechneter Faktor bei Einpunktkalibration ist zu groß, um dargestellt werden zu können. • Polynom bei Mehrpunktkalibration ist mit den gemessenen Extinktionswerten nicht darstellbar. 	▶ Bei Messungen mit Standards: Gemessene Extinktionen überprüfen; Standards ggf. noch einmal ansetzen und erneut messen.
UNGÜLTIGE EINGABE	Bei Eingabe einer Probennummer: Die Nummer "0" wurde eingegeben.	▶ Probennummer zwischen 1 und 999 eingeben.
MESSMODUL FEHLER 1 (oder 2 oder 3)	Technische Fehlermeldungen.	▶ Wenden Sie sich an den Eppendorf Service.

8 Problembehebung

8.3 Allgemeine Fehler

Fehler	Mögliche Ursache	Maßnahme
Messergebnisse sind unpräzise.	<ul style="list-style-type: none"> • Haltbarkeit der Reagenzlösung überschritten. • Reagenz nicht richtig vorbereitet. • Pipettierung nicht richtig. • Ablauf der Inkubation vor der Messung nicht richtig. • Küvette verschmutzt. • Küvette nicht vollständig und blasenfrei mit Messlösung befüllt. • Messlösung trübe. • Photometer driftet. 	<ul style="list-style-type: none"> ▶ Stellen Sie sicher, dass das Reagenz noch haltbar ist und richtig vorbereitet wird. ▶ Benutzen Sie für die Vorbereitung - sofern benötigt - sauberes, demineralisiertes Wasser von ausreichender Qualität. ▶ Stellen Sie sicher, dass die Pipette kalibriert ist und richtig pipettiert. ▶ Sofern der Methodenablauf vor der Messung eine Inkubation erfordert, stellen Sie sicher, dass die Temperatur und Zeit für die Inkubation korrekt eingehalten werden. ▶ Reinigen und spülen Sie die Küvette. Achten Sie bei einem Küvettenwechsel darauf, dass das optische Fenster der Küvette sauber bleibt und nicht mit den Fingern berührt wird. ▶ Wenn das Küvettenfenster durch Fingerabdrücke verschmutzt ist, reinigen Sie es durch Abwischen mit einem fusselfreien Labortuch, das mit Alkohol getränkt ist. ▶ Stellen Sie sicher, dass das erforderliche Mindestvolumen der Küvette für eine Messung erreicht wird und dass keine Blasen in der Messlösung sind. ▶ Zentrifugieren Sie trübe, partikelhaltige Messlösungen und benutzen Sie den klaren Überstand. ▶ Kontaktieren Sie den Eppendorf Service.
Messergebnisse sind unrichtig.	<ul style="list-style-type: none"> • Methode falsch programmiert. • Standardlösung nicht richtig vorbereitet. • Extinktion des Reagenz driftet. <p>Weitere mögliche Ursachen finden Sie unter dem Fehler "Messergebnisse sind unpräzise".</p>	<ul style="list-style-type: none"> ▶ Stellen Sie sicher, dass die Methodenparameter richtig eingegeben sind. ▶ Stellen Sie sicher, dass der richtige Standard benutzt wird und die Messlösung für den Standard richtig vorbereitet wird. ▶ (Bei instabiler Reagenzextinktion und Endpunktmethode:) Messen Sie bei der Messung einer langen Probenreihe den Reagenzleerwert nicht nur zu Beginn, sondern auch während der Probenreihe. Bei stärkerer Drift des Reagenzleerwerts ist das Reagenz nicht geeignet für fehlerfreie Messungen und muss durch neues Reagenz ersetzt werden. <p>Weitere mögliche Maßnahmen finden Sie unter dem Fehler "Messergebnisse sind unpräzise".</p>

DE

Bedienungsanleitung

9 Transport, Lagerung und Entsorgung

9.1 Transport

► Transportieren Sie das Gerät ausschließlich in der Originalverpackung.

	Lufttemperatur	rel. Luftfeuchte	Luftdruck
Allgemeiner Transport	-25 bis 60 °C	10 bis 95 %	30 bis 106 kPa
Luftfracht	-40 bis 55 °C	10 bis 95 %	30 bis 106 kPa

9.2 Lagerung

	Lufttemperatur	rel. Luftfeuchte	Luftdruck
in Transportverpackung	-25 bis 55 °C	25 bis 75 %	70 bis 106 kPa
ohne Transportverpackung	-5 bis 45 °C	25 bis 75 %	70 bis 106 kPa

9.3 Entsorgung

Beachten Sie im Falle einer Entsorgung des Produktes die jeweiligen gesetzlichen Vorschriften.

Information zur Entsorgung von elektrischen und elektronischen Geräten in der Europäischen Gemeinschaft:

Innerhalb der Europäischen Gemeinschaft wird für elektrisch betriebene Geräte die Entsorgung durch nationale Regelungen vorgegeben, die auf der EU-Richtlinie 2002/96/EC über Elektro- und Elektronik-Altgeräte (WEEE) basieren.

Danach dürfen alle nach dem 13.08.2005 gelieferten Geräte im Business-to-Business-Bereich, in den dieses Produkt eingeordnet ist, nicht mehr mit dem kommunalen oder Hausmüll entsorgt werden. Um dies zu dokumentieren, sind sie mit folgendem Kennzeichen ausgestattet:



Da die Entsorgungsvorschriften innerhalb der EU von Land zu Land unterschiedlich sein können, bitten wir Sie, im Bedarfsfall Ihren Lieferanten anzusprechen.

In Deutschland gilt diese Kennzeichnungspflicht ab dem 23.03.2006. Ab diesem Termin hat der Hersteller für alle ab dem 13.08.2005 gelieferten Geräte, eine angemessene Möglichkeit der Rücknahme anzubieten. Für alle vor dem 13.08.2005 gelieferten Geräte ist der Letztverwender für die ordnungsgemäße Entsorgung zuständig.

10 Technische Daten

10.1 Stromversorgung

Spannungsversorgung	100 bis 240 V \pm 10% / 50 bis 60 Hz \pm 5%
Überspannungskategorie	IEC 61010-1 Kategorie II
Verschmutzungsgrad	IEC 61010-1 Kategorie II
Leistungsaufnahme	ca. 20 W im Bedienablauf, ca. 10 W im Standby-Modus
Zulässige Netzunterbrechung	Ca. 10 ms bei 90 V Ca. 20 ms bei 220 V
Sicherungen	T 1A/250 V, 5 mm x 20 mm (2 Stück)

10.2 Umgebungsbedingungen

Betrieb	Umgebungstemperatur: 15 bis 35 °C rel. Luftfeuchte: 15 bis 70% Luftdruck: 86 bis 106 kPa
Lagerung	Umgebungstemperatur: -25 bis 70 °C rel. Luftfeuchte: 15 bis 70% Luftdruck: 30 bis 106 kPa
Nicht tropenfest. Vor direktem Sonnenlicht schützen.	

10.3 Gewicht / Maße

Gewicht	3 kg (verpackt: 4,8 kg)
Abmessungen	Breite: 200 mm (verpackt: 290 mm) Tiefe: 320 mm (verpackt: 430 mm) Höhe: 100 mm (verpackt: 200 mm)
Benötigter Raum	Breite: 400 mm (mit Drucker: 650 mm) Tiefe: 500 mm

10.4 Schnittstellen

Schnittstelle für Drucker und PC	seriell RS 232
----------------------------------	----------------

Der anzuschließende Drucker muss den Bestimmungen EN 60950 bzw. UL 1950 entsprechen.

10.5 Photometer

Messprinzip	Absorption-Einstrahlphotometer mit Referenzstrahl und mehreren festen Wellenlängen
Lichtquelle	Xenon-Blitzlampe
Spektrale Zerlegung	Holographisches Konkavgitter
Strahlungsempfänger	Silicium-Photodioden
Wellenlängen	230, 260, 280, 340, 405, 490, 550, 595, 650 nm
Wellenlängenauswahl	Methodenabhängig, programmgesteuert
Spektrale Bandbreite	5 nm bei 230 bis 340 nm 7 nm bei 405 bis 650 nm
Systematische Messabweichung der Wellenlänge	\pm 1 nm bei 230 bis 280 nm \pm 2 nm bei 340 bis 650 nm

10 Technische Daten

Photometrischer Messbereich

Quarzglasküvette:

- E = 0 bis 3, außer:
- E = 0 bis 2 bei 340 nm
- Nur für Dye-Methoden:
E = 0 bis 2 bei 550/650 nm

UVette (Eppendorf):

- E = 0 bis 2,5 bei 230 nm
- E = 0 bis 2,6 bei 260 nm
- E = 0 bis 2,8 bei 280 nm
- Andere Werte siehe Quarzglasküvette

Ablesegenauigkeit

$\Delta E = 0,001$

Zufällige Messabweichung des Photometers

$\leq 0,002$ bei E = 0

$\leq 0,005$ bei E = 1

Systematische Messabweichung des Photometers

$\pm 1\%$ bei E = 1

Falschlichtanteil

$< 0,05\%$

10.6 Weitere technische Parameter

Küvettenmaterial

Für DNA, RNA, Oligo, Protein UV, Assay 340:
Quarzglas oder UV-transparenter Kunststoff
(UVette von Eppendorf)

Für OD600, Bradford, Lowry, BCA, Assay 405,
Assay 490:

Glas oder Kunststoff

Küvettenschacht

12,5 mm x 12,5 mm, untemperiert

Gesamthöhe der Küvetten

Min. 36 mm

Höhe des Lichtstrahls in der Küvette

8,5 mm

Lichtbündel in der Küvette

Breite: 1 mm

Höhe: 1,5 mm

Tastatur

19 Folientasten

Anzeige

Beleuchtete Grafikanzeige, 33 mm x 60 mm

Sprachen für Bedienerführung

Englisch, Französisch, Deutsch

Ergebnisausgabe

Über Anzeige und Drucker:
Extinktion, Konzentration, Ratio, FOI

Normen und Vorschriften

Gemäß VDE, CE, IEC 1010-1

10.7 Anwendungsparameter

Methodenspeicher

32 vorprogrammierte, änderbare
Methodenprogramme

Messverfahren

Endpunkt gegen Leerwert
Dye-Methoden: parallele Messung von
Biomolekül und Farbstoff-Markierung

10 Technische Daten

Methodenabhängige Auswertung

Extinktion

Konzentration über Faktor

Konzentration über Kalibration mit 1 bis 10 Standards:

- Einpunktkalibration (1 Standard)
- Lineare Regression (2 bis 10 Standards)
- Nichtlineare Regression (Polynom 3. Grades; 4 bzw. 5 bis 10 Standards (siehe *Auswerteverfahren* auf S. 86))
- 1x, 2x oder 3x - Bestimmung

Für Nukleinsäuren:

- Ratio 260/280
- Ratio 260/230
- Molare Konzentration
- Gesamtausbeute

Für Dye-Methoden:

- FOI (frequency of incorporation; Markierungsdichte)

Kalibrationsspeicher

Für alle Kalibrationsverfahren

Messwertspeicher

Für 100 Ergebnisse mit Extinktions- und Ratio-Werten, Probennummer, Probenverdünnung, Datum und Uhrzeit

11 Auswerteverfahren

Dieses Kapitel beschreibt die in den Methodenprogrammen verfügbaren Auswerteverfahren (siehe *Parameter* auf S. 70) sowie die Berechnung einer Verdünnung durch die Geräte-Software.



Beachten Sie beim Vergleich von Messergebnissen mit den Ergebnissen anderer Photometer / Spektrometer, dass die Werte von der Bandbreite der Geräte abhängen können. In den folgenden Fällen können die Unterschiede erheblich sein:

- Das Extinktionsspektrum weist bei der Messwellenlänge einen schmalen Peak auf.
- Es wird nicht am Maximum, sondern auf der Flanke eines Peaks gemessen.

Kontrollieren Sie daher die Richtigkeit der Methode über die Messung von Standards.

11.1 Auswertung mit Faktor

$$C = E \times F$$

C = berechnete Konzentration

E = gemessene Extinktion

F = Faktor

Der Faktor ist in der Parameterliste programmiert und kann verändert werden. Bei den Dye-Methoden wird der Faktor für die Berechnung der Farbstoff ("Dye")-Komponente aus dem Parameter Extinktionskoeffizient vom Gerät errechnet.

Der Faktor bezieht sich immer auf die Küvettschichtdicke 10 mm. Wenn Sie den Parameter KÜVETTE ändern, wird die Änderung vom Gerät bei der Ergebnisberechnung berücksichtigt. Sie müssen den Faktor für die Auswertung also nicht ändern.

Wenn Sie die Konzentrationseinheit ändern, müssen Sie dagegen darauf achten, dass der Faktor an die gewählte Einheit angepasst ist.

11.2 Auswertung mit Standards

11.2.1 Einpunktkalibration

$$F = \frac{C_s}{E_s}$$

F = berechneter Faktor

C_S = Sollkonzentration des Standards

E_S = gemessene Extinktion des Standards

Die Sollkonzentration ist in der Parameterliste programmiert und kann verändert werden.

Wurde für den Standard Mehrfachmessung (2x, 3x) programmiert, erfolgt die Auswertung aus den gemessenen Extinktionen unter Einbeziehung des Nullwerts über lineare Regression. Nach Berechnung der Regression wird ein VK-Wert (Variations-Koeffizient in der Einheit %) als Maß für die Streuung der Messwerte gebildet. Ist der VK größer als 10%, wird er angezeigt. In diesem Fall wird die Kalibration erst nach Bestätigung gespeichert.

Die Berechnung der Probenkonzentration erfolgt mit dem berechneten Faktor:

$$C = E \times F$$

11 Auswerteverfahren

11.2.2 Mehrpunktkalibration: Kalibrationsgerade

Zur Auswertung über eine Kalibrationsgerade wird bei dem Parameter "REGRESSION" die Auswahl "LINEAR" programmiert.

Aus 2 bis 10 Standards, die in Einzel-, Doppel- oder Dreifachbestimmung gemessen werden können, wird über lineare Regression eine Geradengleichung (Konzentration als Funktion der Extinktion) berechnet:

$$C = a_0 + a_1 E$$

a_0 = Schnittpunkt der Kalibrationsgeraden mit der Konzentrationsachse ("Offset": Konzentration einer Probe mit der Extinktion 0)

a_1 = Steigung der Kalibrationsgeraden ("Faktor")

Nach Berechnung der Regression wird vom Gerät ein VK-Wert (s.o.) als Maß für die Streuung der Messwerte um die Kalibrationsgerade herum gebildet (Ausnahme: Zweipunktkalibration mit Einfachbestimmung der beiden Standards). Ist der VK größer als 10%, wird er angezeigt. In diesem Fall wird die Kalibration erst nach Bestätigung gespeichert. Bei mehr als 2 Standards wird der VK-Wert immer (auch bei einem Wert unter 10%) angezeigt.

In der Funktionsliste können die Daten der Kalibration ausgedruckt werden.

11.2.3 Mehrpunktkalibration: Kalibrationskurve

Zur Auswertung über eine Kalibrationsgerade wird bei dem Parameter "REGRESSION" die Auswahl "NICHT LINEAR" programmiert.

Aus 5 bis 10 Standards, die in Einzelbestimmung gemessen werden, bzw. aus 4 bis 10 Standards, die in Doppel- oder Dreifachbestimmung gemessen werden, wird über nichtlineare Regression ein Gleichung für ein Polynom dritten Grades (Konzentration als Funktion der Extinktion) berechnet.

$$C = a_0 + a_1 E + a_2 E^2 + a_3 E^3$$

a = Koeffizienten (die Koeffizienten werden mit der Methode der kleinsten Quadrate bestimmt)

Nach Berechnung der Regression wird vom Gerät ein VK-Wert (s.o.) als Maß für die Streuung der Messwerte um die Kalibrationsgerade herum gebildet. Ist der VK größer als 10%, wird die Kalibration erst nach Bestätigung gespeichert.

Die oben genannten Ausführungen zum VK-Wert und zum Ausdruck der Kalibrationsdaten gelten hier entsprechend.

11.3 Verdünnung

Im Methodenablauf eingegebene Verdünnungen werden bei der Ergebnisberechnung berücksichtigt:

$$C_{Dil, kor} = C \times \frac{V_P + V_{Dil}}{V_P}$$

$C_{Dil, kor}$ = mit Verdünnungsfaktor umgerechnetes Ergebnis

V_P = Volumen der Probe in der Messlösung

V_{Dil} = Volumen des Diluents in der Messlösung

11 Auswerteverfahren

11.4 Spezielle Auswerteverfahren für die Dye-Methoden

11.4.1 Berechnung des Faktors für den Farbstoff aus dem Extinktionskoeffizienten

Bei den Dye-Methoden wird für den Farbstoff aus dem in den Parametern eingegebenen Extinktionskoeffizienten ein Faktor errechnet und im Startbildschirm des Methodenablaufs angezeigt.

Der Faktor wird wie folgt berechnet:

$$F_{d,Dye} = \frac{1}{\epsilon_{Dye} \times d} \times 10^6$$

$F_{d,Dye}$ = Faktor für den Farbstoff unter automatischer Berücksichtigung der Küvetteneschichtdicke

ϵ_{Dye} = Extinktionskoeffizient für den Farbstoff, wird in den Methodenparametern programmiert;
Einheit: $\text{cm}^{-1}\text{M}^{-1}$

d = Küvetteneschichtdicke; Einheit: cm

11.4.2 Berechnung der FOI

Als Wert für das Verhältnis von Farbstoffmolekülen zur Menge der Nukleotide in der Nukleinsäure wird bei den Dye-Methoden die Einbaurate (FOI = Frequency of Incorporation) berechnet und angezeigt. Die Berechnung kann für zwei verschiedene Ergebniseinheiten ausgewählt werden:

Einheit MOLEKÜLE DYE / kb

$$FOI = \frac{E_{X50}}{\epsilon_{Dye}} \times \frac{10^6 \times MM_{nt}}{E_{260} \times F}$$

Einheit pmol / μg DNA (bzw. RNA)

$$FOI = \frac{E_{X50}}{\epsilon_{Dye}} \times \frac{10^9}{E_{260} \times F}$$

E_{X50} = gemessene Extinktion des Farbstoffs bei 550 bzw. 650 nm

ϵ_{Dye} = Extinktionskoeffizient für den Farbstoff; Einheit: $\text{cm}^{-1}\text{M}^{-1}$

MM_{nt} = durchschnittliche Molmasse der Nukleotide; Einheit: g/mol; für dsDNA/ssDNA/Oligo DNA: 325; für RNA / Oligo RNA: 337

E_{260} = gemessene Extinktion der Nukleinsäure

F = Faktor zur Berechnung der Nukleinsäure, ist in den Methodenparametern programmiert. Der Faktor ist auf die Küvetteneschichtdicke von 10 mm bezogen und muss bei Änderung des Parameters KÜVETTE nicht geändert werden.

11 Auswerteverfahren

11.5 Spezielle Auswerteverfahren für Nukleinsäuren und Protein UV

Dieser Abschnitt bezieht sich auf die Auswertung von Nukleinsäuren bzw. Proteinen in den Methoden dsDNA, ssDNA, Oligo DNA, RNA, Oligo RNA, Protein UV sowie der entsprechenden Biomolekülkomponenten in den Dye-Methoden.

11.5.1 Korrektur E_{340}

Anwendung: Partielle Korrektur von Verfälschungen der Extinktion durch Trübungen in der Messlösung.

Die Anwendung des Auswerteverfahrens kann in der Parameterliste der Methode aktiviert werden.

$$E_{X, \text{korr}} = E_X - E_{340}$$

$E_{X, \text{korr}}$ = rechnerisch korrigierte Extinktion bei der Wellenlänge 230, 260 und 280 nm

E_X = gemessene Extinktion bei der Wellenlänge 230, 260 und 280 nm

E_{340} = gemessene Extinktion bei der Wellenlänge 340 nm

11.5.2 Korrektur $E_{550/650}$

Anwendung: Korrektur des Einflusses der Farbstoffextinktion auf die Nukleinsäure- bzw. Proteinextinktion bei 260 und 280 nm.

Die Anwendung des Auswerteverfahrens kann in der Parameterliste der Methode aktiviert werden.

$$E_{X, \text{korr}} = E_X - KF_X \times E_{X50}$$

$E_{X, \text{korr}}$ = rechnerisch korrigierte Extinktion bei der Wellenlänge 260 und 280 nm

E_X = gemessene Extinktion bei der Wellenlänge 260 und 280 nm

KF_X = Korrekturfaktor für die Wellenlänge 260 bzw. 280 nm (die beiden Korrekturfaktoren für 260 und für 280 nm werden in der Parameterliste der Methode programmiert)

E_{X50} = gemessene Extinktion bei der Wellenlänge 550 (bzw. 650) nm



Die in den Ergebnisanzeigen dargestellten Extinktionswerte sind die direkt gemessenen, nicht korrigierten Extinktionswerte.

11.5.3 Umrechnung in molare Konzentrationen und Nukleinsäuremengen

Die Umrechnung kann nur für Nukleinsäuren und Dye-Methoden mit Nukleinsäuren als Biomolekülkomponente angewendet werden.

Berechnung der Menge

Anwendung: Berechnung der Menge (Masse) an Nukleinsäure bzw. Nukleinsäure-Farbstoff-Konjugat im gesamten Probenvolumen.

$$M = C \times V_{P, \text{gesamt}}$$

M = berechnete Gesamtmenge (Masse) der Nukleinsäure bzw. des Konjugats im Probengefäß

C = berechnete Konzentration der Nukleinsäure bzw. des Konjugats

$V_{P, \text{gesamt}}$ = Volumen der Probe im Probengefäß; wird vom Anwender im dritten Bildschirm der Ergebnisanzeige eingegeben (siehe *Nukleinsäuren* auf S. 63).

11 Auswerteverfahren

Berechnung der molaren Konzentration

Anwendung: Berechnung der molaren Konzentration der Nukleinsäure aus Massenkonzentration und relativer Molmasse. Die Molmasse wird entweder direkt eingegeben oder vom Gerät aus der eingegebenen Zahl der Basen bzw. Basenpaaren pro Nukleinsäuremolekül errechnet.

$$C_{Mol} = \frac{C}{MM}$$

C_{Mol} = berechnete molare Konzentration der Nukleinsäure; die Einheit für die molare Konzentration wird in der Parameterliste der Methode programmiert; je nach programmierter Einheit wird die obige Formel automatisch angepasst.

C = Massenkonzentration der Nukleinsäure in ng/μl oder μg/ml, aus der gemessenen Extinktion wird das Konzentrationsergebnis vom Gerät errechnet und im Ergebnisbildschirm angezeigt

MM = relative Molmasse in kDa

Falls im dritten Ergebnisbildschirm statt der relativen Molmasse die Zahl der Basen bzw. Basenpaaren pro Nukleinsäuremolekül eingegeben wurde, wird MM aus der Zahl der Basen (-paare) berechnet:

Für dsDNA:

$$MM = bp \times 2 \times 330 \times 10^{-3}$$

Für ssDNA, RNA, Oligo:

$$MM = b \times 330 \times 10^{-3}$$

MM = berechnete relative Molmasse in kDa

bp = eingegebene Zahl der Basenpaare pro Molekül

b = eingegebene Zahl der Basen pro Molekül

12 Bestellinformationen

Best.-Nr. (International)	Best.-Nr. (Nordamerika)	Beschreibung
6132 000.008 6132 000.016	- 952000006	BioPhotometer plus 230 V / 50-60 Hz, Netzstecker Europa, weitere Netzanschlussvarianten erhältlich 120 V / 50-60 Hz, Netzstecker Nordamerika
6131 928.007	952010221	Sekundär UV-VIS-Filter Testfiltersatz zur Überprüfung der photometrischen Richtigkeit und Wellenlängenrichtigkeit (gemäß NIST)
6131 011.006 6131 010.000	- 952010140	Thermodrucker DPU 414 inkl. Netzteil und Druckerkabel 230 V 115 V
0013 021.566	952010409	Thermopapier 5 Rollen
0030 106.300	952010051	UVette® Original Eppendorf Kunststoffküvette, einzeln verpackt, direkt im BioPhotometer verwendbar, zertifiziert RNase-, DNA and proteinfrei 80 Stück
0030 106.318	952010069	UVette® routine pack Eppendorf Quality Reinheitsgrad, wiederverschließbare Box 200 Stück
4308 078.006	940001102	Küvettenständer für 16 Küvetten

DE

Bedienungsanleitung

EG-Konformitätserklärung EC Conformity Declaration

Das bezeichnete Produkt entspricht den einschlägigen grundlegenden Anforderungen der aufgeführten EG-Richtlinien und Normen. Bei einer nicht mit uns abgestimmten Änderung des Produktes oder einer nicht bestimmungsgemäßen Anwendung verliert diese Erklärung ihre Gültigkeit.

The product named below fulfills the relevant fundamental requirements of the EC directives and standards listed. In the case of unauthorized modifications to the product or an unintended use this declaration becomes invalid.

Produktbezeichnung, Product name:

BioPhotometer plus 6132

Produkttyp, Product type:

Photometer

Einschlägige EG-Richtlinien/Normen, Relevant EC directives/standards:

2006/95/EG, EN 61010-1

2004/108/EG, EN 55011/B, EN 61000-6-1, EN 61000-3-2, EN 61000-3-3, EN 61000-4-14



Vorstand/ Board of Management:

29.10.2007

Hamburg, Date:



Projektmanagement, Project Management:

eppendorf



Eppendorf AG · Barkhausenweg 1 · 22339 Hamburg · Germany

Eppendorf offices

AUSTRALIA & NEW ZEALAND

Eppendorf South Pacific Pty. Ltd.
Phone: +61 2 9889 5000
Fax: +61 2 9889 5111
E-mail: Info@eppendorf.com.au
Internet: www.eppendorf.com.au

AUSTRIA

Eppendorf Austria
Phone: +43 1 29017560
Fax: +43 1 290175620
E-mail: office@eppendorf.at
Internet: www.eppendorf.at

BRAZIL

Eppendorf do Brasil Ltda.
Phone: +55 11 30 95 93 44
Fax: +55 11 30 95 93 40
E-mail: eppendorf@eppendorf.com.br
Internet: www.eppendorf.com.br

CANADA

Eppendorf Canada Ltd.
Phone: +1 905 826 5525
Fax: +1 905 826 5424
E-mail: canada@eppendorf.com
Internet: www.eppendorfn.com

CHINA

Eppendorf China Ltd.
Phone: +86 21 68760880
Fax: +86 21 50815371
E-mail: market.info@eppendorf.cn
Internet: www.eppendorf.cn

FRANCE

Eppendorf France S.A.R.L.
Phone: +33 1 30 15 67 40
Fax: +33 1 30 15 67 45
E-mail: eppendorf@eppendorf.fr
Internet: www.eppendorf.fr

GERMANY

Eppendorf Vertrieb
Deutschland GmbH
Phone: +49 2232 418-0
Fax: +49 2232 418-155
E-mail: vertrieb@eppendorf.de
Internet: www.eppendorf.de

INDIA

Eppendorf India Limited
Phone: +91 44 42 11 13 14
Fax: +91 44 42 18 74 05
E-mail: info@eppendorf.co.in
Internet: www.eppendorf.co.in

ITALY

Eppendorf s.r.l.
Phone: +390 2 55 404 1
Fax: +390 2 58 013 438
E-mail: eppendorf@eppendorf.it
Internet: www.eppendorf.it

JAPAN

Eppendorf Co. Ltd.
Phone: +81 3 5825 2363
Fax: +81 3 5825 2365
E-mail: info@eppendorf.jp
Internet: www.eppendorf.jp

NORDIC

Eppendorf Nordic Aps
Phone: +45 70 22 2970
Fax: +45 45 76 7370
E-mail: nordic@eppendorf.dk
Internet: www.eppendorf.dk

SOUTH & SOUTHEAST ASIA

Eppendorf Asia Pacific Sdn. Bhd.
Phone: +60 3 8023 2769
Fax: +60 3 8023 3720
E-mail: asiapacific@eppendorf.com.my
Internet: www.eppendorf.com.my

SPAIN

Eppendorf Ibérica S.L.U.
Phone: +34 91 651 76 94
Fax: +34 91 651 81 44
E-mail: iberica@eppendorf.es
Internet: www.eppendorf.es

SWITZERLAND

Vaudaux-Eppendorf AG
Phone: +41 61 482 1414
Fax: +41 61 482 1419
E-mail: vaudaux@vaudaux.ch
Internet: www.eppendorf.ch

UNITED KINGDOM

Eppendorf UK Limited
Phone: +44 1223 200 440
Fax: +44 1223 200 441
E-mail: sales@eppendorf.co.uk
Internet: www.eppendorf.co.uk

USA

Eppendorf North America, Inc.
Phone: +1 516 334 7500
Fax: +1 516 334 7506
E-mail: info@eppendorf.com
Internet: www.eppendorfn.com

OTHER COUNTRIES

Internet: www.eppendorf.com/worldwide



Your local distributor: www.eppendorf.com/worldwide

Eppendorf AG · 22331 Hamburg · Germany · Tel. +49 40 538 01-0 · Fax +49 40 538 01-556 · E-Mail: eppendorf@eppendorf.com

Eppendorf North America, Inc. · One Cantiague Road · P.O. Box 1019 · Westbury, N.Y. 11590-0207 · USA

Tel. +1 516 334 7500 · Toll free phone 800 645 3050 · Fax +1 516 334 7506 · E-Mail: info@eppendorf.com

Application Support

Europe, International: Tel. +49 1803 666 789 · E-Mail: support@eppendorf.com

North America: Tel. 800 645 3050 ext. 2258 · E-Mail: support_na@eppendorf.com

Asia Pacific: Tel. +603 8023 6869 · E-Mail: support_asiapacific@eppendorf.com